FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT
FÜR ANALYTISCHE
CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

149. BAND
VIERTES HEFT
MIT 14 ABBILDUNGEN IM TEXT

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
J. F. BERGMANN · MÜNCHEN
1956

Z.anal. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*.

Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C. W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C. W. Kreidel und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als 1½ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 40535

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24
Fernsprecher 27901
Berlin W 35, Reichpietschufer 20
Fernsprecher 249251

Band 149 — **Inhaltsverzeichnis** — Heft 4

Originalabhandlungen — Seite

Wehber, P., Chelatometrie. V. Das Zersetzungsprodukt von Bindschedlers Grün als Redoxindicator. 2. Bestimmung von Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA) mit Eisen(III)-salz 241

Wehber, P., Chelatometrie. VI. Zur Bestimmung größerer Kupfer(II)-Ionenkonzentrationen mit Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA) 244

Erdey, L., und **G. Rády,** Komplexometrische Eisenbestimmung in Anwesenheit von Variaminblau als Indicator 250

Petzold, A., Notizen zur Cerimetrie. I. Die cerimetrische Titration sehr kleiner Mengen zweiwertigen Eisens in Gegenwart einiger oxydabler Ionen . . 258

Pfeiffer, H., und **H. Diller,** Erfahrungen in der toxikologischen Analyse, insbesondere mit dem Verfahren von Feldstein und Klendshoj. Mit 3 Textabbildungen 264

Datta, S. K., Analytical Aspects of some Azo Dyes from Chromotropic Acid. Part I: SNADNS Dyes in the Detection and Volumetric Determination of Thorium 270

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Warenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem Laboratorium der Metallhütte Mark A.G., Hamburg-Wilhelmsburg

Chelatometrie. V*

Das Zersetzungsprodukt von BINDSCHEDLERS Grün als Redoxindicator

2. Bestimmung von Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA) mit Eisen(III)-salz

Von

PETER WEHBER

(Eingegangen am 31. August 1955)

Die in Wasser leicht löslichen Salze der Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA) haben als Chelatbildner sehr vieler Kationen große technische Bedeutung erlangt. Die volumetrische Bestimmung reiner EDTA-Produkte bietet nach Ausarbeitung der Komplexonmethoden durch SCHWARZENBACH[3, 4] keine Schwierigkeiten. Anders verhält es sich mit den technischen Salzen dieser Säure. Diese enthalten auch Ionen der Elemente Ca, Si, Mg, Ba und Al sowie weitere organische Komplexbildner. Für die Bestimmung des technischen Tetranatriumsalzes der EDTA, des Trilons *B* der BASF, wurde von KERCKOW[2] eine Bestimmungsmethode mitgeteilt. Lösungen von 1 g Trilon *B* werden bei p_H 10 mit Magnesiumsalzmaßlösung gegen Eriochromschwarz *T* als Indicator titriert. Dabei wird nur der freie, nicht an Ca^{2+} sowie an Mg^{2+} und Ba^{2+} gebundene Teil der EDTA erfaßt. Es ist nicht leicht, bei dieser Titration den Endpunkt zu bestimmen. Der Farbumschlag erfolgt zu einem mehr oder weniger blaustichigen Weinrot. Der Äquivalenzpunkt ist aber erst erreicht, wenn die letzte blaue Nuance verschwunden ist. Diese Umschlagsunschärfe wird durch schwächere organische Komplexbildner bedingt, die neben EDTA im Trilon *B* vorliegen. Bei der Titration werden nämlich EDTA-Chelate bevorzugt gebildet. Erst danach wird Magnesium an die schwächeren Komplexbildner gebunden. Die scheinbaren Bildungskonstanten dieser schwächeren Komplexe sind kleiner als die scheinbare Indicatorkonstante des Magnesium-Eriochromschwarz *T*-Komplexes, so daß es zu keinem scharfen Farbumschlag kommen kann. Vergrößert man die Einwaage an Trilon *B*, so wird die gegen Titrationsende vorliegende Konzentration an schwächeren Komplexbildnern immer größer und damit auch das Umschlagsintervall. Bei sehr kleinen Einwaagen erfolgt der Farbumschlag mit 0,1 m Magnesiumsalzlösung auf 1 Tropfen. Für die direkte Bestimmung von Trilon *B* in

* Mitteilung IV dieser Reihe: P. WEHBER[5].

Seifen eignet sich die eben beschriebene Methode wegen Ausfallens von Magnesiumseife nicht.

Ich versuchte nun, den Arbeitsbereich in das saure Medium zu verlegen. Die anorganischen Verunreinigungen stören dann nicht mehr, wenn von einer Spur Eisen abgesehen wird, die im Trilon *B* enthalten sein mag. Metallseifen, die im alkalischen Gebiet die Titration unmöglich machen, fallen bei p_H 3 nicht aus. Als Bestimmungsmethode bot sich die vor kurzem[5] beschriebene Titration der Eisen(III)-Ionen mit EDTA gegen das dunkelbraune Zersetzungsprodukt von Bindschedlers Grün als Redoxindicator bei p_H 2,5—3,5 an. Titrationsversuche zeigten, daß auch die inverse Titration von EDTA mit Eisen(III)-chloridmaßlösung sehr gut möglich ist, und zwar auch im Trilon *B*. Hierbei wird praktisch der gesamte EDTA-Gehalt bestimmt.

Dieser wurde bisher nach einer Arbeitsweise der „Bersworth Chemical Company" (jetzt „Versenes Incorporated")[1] gravimetrisch ermittelt. Die Erdalkalichelate enthaltende EDTA-Lösung wird bei p_H 4 mit einem gemessenen Nickelchloridüberschuß umgesetzt. Dann stellt man mit Natriumhydroxyd p_H 10 ein und filtriert nach 15 min Rühren das dem Überschuß entsprechende Nickelhydroxyd ab. Dieses wird nach Lösen in verdünnter Salzsäure als Dimethylglyoximsalz gefällt und gewogen.

In saurer Lösung ist die Komplexstabilität von EDTA mit 3-wertigen Metall-Ionen im allgemeinen größer als die mit 2-wertigen Ionen. So beträgt nach Schwarzenbach[4] der Logarithmus der scheinbaren Bildungskonstante des Eisen(III)-EDTA-Komplexes für p_H 3 noch ungefähr 14,5*. Auf Grund des verhältnismäßig scharfen Indicatorumschlages bei der Titration von Trilon *B* darf angenommen werden, daß der größte Teil der EDTA begleitenden organischen Substanzen mit Eisen(III)-Ionen Komplexe bilden, deren scheinbare Bildungskonstanten größer als 10^9 sind. Dann ist eine Titration mit Redoxindication noch möglich.

Zur Erprobung der Bestimmung und zur Ermittlung der Indicatorkorrektur wurden zuerst EDTA-Lösungen titriert. Diese bereitete man aus Trilon *BS*, einer sehr reinen technischen Äthylendiamintetraessigsäure der BASF.

Arbeitsvorschrift

Herstellung und Zusammensetzung der Reagentien sind in der früheren Mitteilung[5] beschrieben. Die EDTA-Probe wird im 200 ml-Erlenmeyer-Kolben bei Zimmertemperatur (17—26° C) in 60 —70 ml destilliertem Wasser gelöst. Man fügt 10 ml Pufferlösung und etwa 80 mg Mischindicator zu und titriert mit 0,1 m Eisen-(III)-chloridlösung bis zum Umschlag von Orange bzw. Orangerot nach Grün bzw. Olivgrün. Die Farbänderungen sind von der Stärke des gelben Eisen(III)-EDTA-Komplexes sowie von der zugemischten Safranin *T*-Menge abhängig. Der Endpunkt ist tropfenweise zu erreichen. p_H 2,5 soll nicht unterschritten werden. Bei größeren zu bestimmenden EDTA-Konzentrationen wird ein unter Umständen abgesunkener p_H-Wert durch Natriumacetatlösung wieder auf etwa p_H 3 gebracht.

* Ohne Berücksichtigung der Acetatokomplexe von 3-wertigem Eisen!

Beleganalysen

1. Bestimmung von Äthylendiamintetraessigsäure, Trilon BS

Die etwa 0,1 m EDTA-Lösung wurde mit 0,1 m Zinkchloridlösung (aus Zinkoxyd bereitet) gegen Eriochromschwarz *T* unter Verwendung von 25 ml-Büretten mit 0,05 ml-Teilung eingestellt. Als Indicatorkorrektur bei Titration der EDTA-Lösung gegen etwa 80 mg Indicatormischung wurden 0,033 ml der 0,1 m Eisen(III)-chloridlösung abgezogen. Beleganalysen finden sich in Tab. 1, in der mit Y^{4-} das EDTA-Anion bezeichnet ist.

Tabelle 1

mg Na_2H_2Y			mg Na_2H_2Y		
gegeben	gefunden	Differenz	gegeben	gefunden	Differenz
32,1	31,9	— 0,2	449,4	450,1	+ 0,7
96,3	96,4	+ 0,1	561,7	562,4	+ 0,7
144,4	144,5	+ 0,1	674,1	673,4	— 0,7
192,6	191,6	— 1,0	754,3	755,8	+ 1,5
321,0	320,7	— 0,3	802,4	801,8	— 0,6

2. Bestimmung von Äthylendiamintetraessigsäure im Trilon B

Am günstigsten erwiesen sich die Einwaagen von 0,5 g, für die in Tab. 2 Titrationsergebnisse gegeben werden. Man löste eine 20,000 g Trilon *B*-Einwaage in 1 l Wasser und entnahm 2 Tage danach* zur Titration jeweils 25 ml. Der Mischindicator enthielt 0,3 g Safranin *T*. Die Indicatorkorrektur erfolgt wie unter 1.

Tabelle 2

Trilon B, gegeben	Na_4Y, gefunden	
mg	mg	%
500	212,9	42,6
500	213,3	42,7
500	212,9	42,6
500	214,4	42,9
500	212,9	42,6

Bei den gewählten Titrationsbedingungen erfolgt der Indicatorumschlag während einiger Tropfen. Der Endpunkt ist eindeutig erkennbar. Andere Redoxmittel stören und müssen vor der Titration beseitigt werden.

Zusammenfassung

Äthylendiamintetraessigsäure läßt sich bei p_H 3 mit Eisen(III)-chloridlösung gegen das dunkelbraune Zersetzungsprodukt von Bindschedlers

* Nach Ergebnissen, die mit dieser Titrationsmethode erzielt wurden, nimmt der Na_4Y-Gehalt einer frisch bereiteten Trilon *B*-Lösung etwa bis zu 14 Tagen erheblich ab.

Grün als Redoxindicator titrieren. Die Bestimmungsmethode ist für technische Äthylendiamintetraessigsäure-Produkte gut geeignet.

Auch einige Kationen werden sich nach Umsetzung mit einem gemessenen Äthylendiamintetraessigsäure-Überschuß und dessen Rücktitration indirekt bestimmen lassen. Über eine Methode der Chrombestimmung wird später berichtet.

Die Badische Anilin- & Soda-Fabrik A.G., Ludwigshafen a. Rhein, ermöglichte diese Arbeit durch Überlassung von Trilon-Produkten. Weiter danke ich Herrn Dr. O. SCHMIDT, BASF, für eine in diesem Zusammenhang stehende briefliche Beratung und Herrn W. JOHANNSEN, Leiter des Laboratoriums der Metallhütte Mark A.G., für sein förderndes Interesse.

Literatur

[1] Bersworth Chemical Company, Technical Bulletin Nr. 2, Framingham, Mass. (USA) 1952. — [2] KERKOW, F. W.: diese Z. **133**, 281 (1951). — [3] SCHWARZENBACH, G.: Komplexon-Methoden, Prospekt der Fa. B. Siegfried A. G., Zofingen, Schweiz. — [4] SCHWARZENBACH, G.: Die komplexometrische Titration, Enke, Stuttgart 1955. — [5] WEHBER, P.: diese Z. **149**, 161 (1956).

P. WEHBER, Kiel, Lantziusstr. 13

Aus dem Laboratorium der Metallhütte Mark A.G., Hamburg-Wilhelmsburg

Chelatometrie. VI*

Zur Bestimmung größerer Kupfer(II)-Ionenkonzentrationen mit Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA)

Von

PETER WEHBER

(Eingegangen am 3. November 1955)

Kupfer(II)-Ionen lassen sich mit Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA) in ammoniakalischer Lösung nach SCHWARZENBACH[10] sowie FLASCHKA[4] gegen Murexid titrieren, während SUK, MALÁT u. JENÍČKOVÁ[11] Brenzcatechinviolett und THEIS[12] Chromazurol *S* als Metallindicatoren vorschlagen. CHENG u. BRAY[1] empfehlen das 1-(2-Pyridylazo)-2-naphthol für acetathaltige Lösungen, in denen Brenzcatechinviolett[11] und Chromazurol *S*[12]** ebenfalls geeignet sein sollen. Die indirekte Kupferbestimmung ist nach Umsetzung mit einem bekannten EDTA-Überschuß

* Mitteilung V dieser Reihe: diese Z. **140**, 241 (1956).

** Eine Nacharbeitung dieser von THEIS beschriebenen Titrationsmethode ergab, daß Erdalkalien und Alkalien stören. Man erhält dann Unterbefunde an Kupfer. Einige diesbezügliche Beleganalysen werden in einer folgenden Veröffentlichung mitgeteilt.

und dessen Rücktitration bei p_H 5 möglich. Als Maßlösungen benutzt man nach Přibil, Koudela u. Matyska[8] Eisen(III)-salz oder nach Flaschka u. Franschitz[5] Zinkchlorid. Dabei wird der Endpunkt elektrochemisch[8] bzw. mit Hilfe des Redoxsystems Hexacyanoferrat(III)/Hexacyanoferrat(II) und 3,3'-Dimethylnaphtidin als Indicator festgelegt[5]. Die meisten dieser Bestimmungen sind in ihrem Anwendungsbereich begrenzt, da mit fortschreitender Titration die Farbe des intensiv blauen Kupfer(II)-EDTA-Chelates immer mehr in den Vordergrund tritt und dadurch die Erkennung des Indicatorumschlages erschwert. Aus diesem Grunde lassen sich meistens nicht mehr als 20—30 mg Kupfer im 100 ml-Volumen erfassen. Bei Übertragung der vor kurzem von Wehber[13] mitgeteilten chelatometrischen Kupfertitration von dem Mikro- auf den Makromaßstab wurde nun festgestellt, daß sich damit wesentlich größere Kupferkonzentrationen als bisher möglich bestimmen lassen.

Bei dieser Titration wird der Potentialsprung ausgenutzt, der beim Äquivalenzpunkt auftritt, wenn eine mit Natriumacetat gepufferte Kupfer(II)-chloridlösung in Gegenwart von Rhodanid-Ionen mit EDTA titriert wird. Bei der von Přibil[7] angedeuteten potentiometrischen Titration dient nur die minimale Kupfer(I)-Ionenkonzentration der Reduktion, die mit den Kupfer(II)-Ionen im Redoxgleichgewicht steht. Macht man aber den Potentialsprung durch den von Erdey u. Bodor[2] beschriebenen Redoxindicator Variaminblau *B*-Base sichtbar, so wird die Reduktion vor allem durch die bei Indicatorzusatz entstandenen Kupfer(I)-Ionen bewirkt. Wie früher schon gezeigt wurde[13], ist bei der Titration zu beachten, daß Kupfer(II)-rhodanid die im Überschuß vorhandenen Rhodanid-Ionen oxydiert. Diese Redoxreaktion, bei der sich das durch EDTA nicht erfaßbare Kupfer(I)-rhodanid bildet, ist von der Einwirkungszeit und von der Temperatur abhängig. Aus diesem Grunde ist die Lösung, die nicht mehr als 20° C warm sein soll, nach dem Rhodanidzusatz sofort zu titrieren, da sonst Unterbefunde an Kupfer nicht zu vermeiden sind. Es war nun zu untersuchen, ob diese Bedingungen auch noch für die Titration größerer Kupfer(II)-salzmengen ausreichen.

Bei der Bestimmung von 3—150 mg Kupfer zeigte sich, daß ein großer Natriumacetatzusatz wichtig ist. Acetat-Ionen bilden mit Kupfer(II)-Ionen Komplexe, so z. B. Hexaacetato-Kupfer(II)-Ionen. Dadurch wird die Kupfer(II)-Ionenkonzentration verringert, so daß die durch Bildung von schwerlöslichem Kupfer(I)-rhodanid bewirkte Potentialerhöhung des Kupfer(II)/Kupfer(I)-Redoxsystems nicht mehr so groß ist. In Gegenwart von viel Acetat wirken also Kupfer(II)-Ionen auf Rhodanid-Ionen schwächer oxydierend ein. Der Zerfall in Kupfer(I)-rhodanid wird somit etwas gehemmt. Unter diesen Bedingungen lassen sich dann bis zu 30 mg Kupfer bestimmen. Enthält die Lösung noch mehr Kupfer, so ist es erforderlich, zuerst den ungefähren EDTA-Verbrauch

durch eine Vortitration zu ermitteln. Bei der nachfolgenden Titration gibt man dann das Ammoniumrhodanid erst gegen Titrationsende zu, und zwar, nachdem man das in der Vortitration ermittelte EDTA-Volumen zugesetzt hat. So wird selbst die Titration größerer Kupfer(II)-salzmengen genau und man kann bis zu 150 mg Kupfer erfassen, da das intensive Violett der oxydierten Variaminblau *B*-Base neben dem blauen Kupfer(II)-EDTA-Chelat noch erkennbar bleibt.

Im Laufe weiterer Untersuchungen über das Kupfer(II)/Kupfer(I)-Redoxsystem wurde versucht, den Rhodanidzusatz, der zu Störungen Anlaß geben kann, zu umgehen. Dabei fand man, daß Kupfer(II)-chlorid die Variaminblau *B*-Base im Natriumacetatpuffer ($\sim$ 3 g $CH_3COONa + 3\ H_2O$ in 100 ml) ebenfalls zu oxydieren vermag, wenn die Lösung sehr viel Natriumchlorid oder Kaliumbromid enthält, z. B. 6 g Natriumchlorid im 100 ml-Volumen. Dieser Natriumchloridzusatz bewirkt offensichtlich eine Zurückdrängung der Acetatokomplexe des 2-wertigen Kupfers sowie eine Dissoziationsverminderung der Chlorokomplexe des 1-wertigen Kupfers. Im Hexamethylentetramin (Urotropin)-Salzsäurepuffer* von p_H 5,5 wird die gleiche Oxydation schon durch weit geringere Chlorid- bzw. Bromidkonzentrationen erreicht, was nach dem auf S. 245 Gesagten auch leicht verständlich ist. In allen diesen Fällen ist der Indicatorumschlag bei der Titration mit 0,1 m EDTA-Lösung gut erkennbar. Nun erhöht sich aber das Redoxpotential des Kupfer(II)/Kupfer(I)-Systems durch Chlorid oder Bromid weit geringer als durch Rhodanid, da diese beiden Kupfer(I)-halogenide bzw. deren Komplexverbindungen wesentlich mehr dissoziiert sind. Deshalb liegen die Redoxpotentiale des Kupfer- und des Indicatorsystems jetzt dichter zusammen und der Indicatorumschlag erfolgt schon beim eben beginnenden Potentialsprung, also etwas vor dem Äquivalenzpunkt und damit zu früh. Man erhält geringe, aber konstante Unterbefunde an Kupfer, die sich durch eine empirische Titerstellung der EDTA gegen Kupfer(II)-chloridlösung beseitigen lassen dürften. Gibt man zu einer austitrierten Lösung Ammoniumrhodanid, so wird der Redoxindicator erneut oxydiert und man erreicht bei weiterer Titration mit einigen Tropfen 0,1 m EDTA den Äquivalenzpunkt. Dieser zweite Farbwechsel ist aber weniger ausgeprägt.

Im folgenden wird die Arbeitsweise für die Titration von Kupfer(II)-rhodanid mit EDTA eingehender beschrieben.

Experimenteller Teil

Reagentien

1. Etwa 0,1 m Äthylendiamintetraessigsäurelösung, vgl. [14].
2. 0,1 m Kupfer(II)-chloridlösung: Man löst 7,954 g Kupfer(II)-oxyd in wenig

* Über die Bedeutung des Hexamethylentetramin-(Urotropin-)Puffers für die Chelatometrie wird in einer folgenden Arbeit berichtet.

heißer, konzentrierter Salzsäure. Bei Zimmertemperatur wird mit Amberlite-Wasser[14] zu 1 l verdünnt.

3. Variaminblau *B*-Base (4-Amino-4′-methoxy-diphenylamin, technisches Produkt) in fester Verdünnung mit Natriumchlorid[3]: 1 g trockene Variaminblau *B*-Base wird mit 100 g Natriumchlorid fein verrieben. Diese Indicatormischung ist im Gegensatz zur salzsauren Lösung beständig.

Arbeitsweise

100 ml der schwach sauren Kupfer(II)-chloridlösung werden mit 3—5 g Natriumacetat abgepuffert. Dabei färbt sich die Lösung grünlichblau. Der p_H-Wert soll etwa 5,5 betragen. Ein p_H-Wert von 6 darf nicht überschritten werden, da sonst der Farbumschlag der Variaminblau *B*-Base zu undeutlich wird. Man setzt 60 bis 80 mg Indicatormischung und 1—2 g Ammoniumrhodanid zu und titriert die nicht mehr als 20° C warme Lösung *sofort* mit 0,1 m EDTA-Lösung. Dabei läßt man die EDTA-Lösung so lange schnell zulaufen, bis die anfänglich durch Kupfer(II)-rhodanid grün gefärbte Lösung blau geworden ist. In langsamer Titration wird ein intensives Blauviolett erreicht. Beim Endpunkt, den man tropfenweise erreicht, schlägt die Farbe zu einem hellen Blaugrün um. Man wartet etwa 1 min und titriert, falls erforderlich, bei größeren Kupfer(II)-Ionenkonzentrationen nochmals aus. Dazu wird meist 1 Tropfen der 0,1 m EDTA-Lösung benötigt.

Wurden mehr als 30 mg Kupfer gefunden, so wiederholt man die Titration. Dabei setzt man das Ammoniumrhodanid erst zu, nachdem das soeben ermittelte EDTA-Volumen zugeflossen ist.

Beleganalysen

Die 0,1 m EDTA-Lösung wurde mit 0,1 m $ZnCl_2$-Lösung (aus Zinkoxyd bereitet) gegen Eriochromschwarz *T* eingestellt. Für die Titrationen wurden 25 ml-Büretten mit 0,05 ml-Teilung benutzt. Die Ergebnisse zeigt Tab. 1.

Tabelle 1

mg Cu			mg Cu		
gegeben	gefunden	Differenz	gegeben	gefunden	Differenz
3,2	3,3	+ 0,1	31,8	31,8	0,0
4,4	4,5	+ 0,1	38,2	38,2	0,0
6,4	6,5	+ 0,1	42,6	42,7	+ 0,1
10,2	10,1	— 0,1	57,2	57,3	+ 0,1
13,3	13,5	+ 0,2	63,5	63,7	+ 0,2
15,9	15,9	0,0	63,5	63,6	+ 0,1
19,1	19,1	0,0	88,9	89,2	+ 0,3
22,2	22,3	+ 0,1	114,4	114,7	+ 0,3
24,8	24,8	0,0	127,1	127,2	+ 0,1
28,0	28,0	0,0	152,5	152,6	+ 0,1

Die beschriebene Titrationsmethode eignet sich auch sehr gut für die umgekehrte Titration, also für die Bestimmung von EDTA mit Kupfer-(II)-chloridmaßlösung. Damit ergibt sich für den p_H-Bereich von 4,5 bis 6,0 eine bequeme Möglichkeit zur indirekten Bestimmung einiger Metall-Ionen, die bei dieser Acidität und bei den Titrationsbedingungen noch

stabile EDTA-Chelate bilden. Nach Umsetzung mit einem EDTA-Überschuß kann dieser mit Kupfer(II)-chloridlösung zurücktitriert werden. Da hierbei nicht die Gefahr besteht, daß sich Kupfer(I)-rhodanid bildet, lassen sich auch wärmere Lösungen, z. B. Lösungen von 40° C, titrieren. Die starke Blaufärbung des Kupfer(II)-EDTA-Chelates ist zu vermeiden, wenn man für Rücktitrationen eine 0,1 m Zinkchloridlösung benutzt, der nur etwas Kupfer(II)-chlorid zur Redoxindication zugesetzt wird.

Störungen

Es wurden jeweils 12,7 mg Kupfer in Gegenwart verschiedener Lösungsgenossen titriert. 200 mg Magnesium und 100 mg Calcium störten nicht, doch war der Indicatorumschlag bei 100 mg Calcium schon nicht mehr besonders scharf. Hier macht sich der schon früher von Pfeiffer u. Schmitz[6] beschriebene Einfluß der Calcium-Ionen auf das Kupfer(II)-EDTA-Chelat bemerkbar. Nach Schwarzenbach[9] beträgt der Logarithmus der scheinbaren Stabilitätskonstanten des Calcium-EDTA-Chelates für p_H 5,5 immerhin noch ungefähr 5. Aus diesem Grunde wird es nach dem bei Pfeiffer u. Schmitz[6] Ausgeführten verständlich, daß das Kupfer(II)-EDTA-Chelat selbst noch bei dieser Acidität durch Calcium-Ionen geschwächt wird. Dementsprechend verkleinert sich auch der bei Titrationsende auftretende p_M-Sprung und damit auch der ihm proportionale Potentialsprung. In Anwesenheit von 420 mg Calcium wurde ungefähr 1% Kupfer zuviel gefunden. Bei der Maskierung des Calciums mit 1,2 g Ammoniumfluorid erhält man durch Adsorption von Kupfer(II)-Ionen am Calciumfluoridniederschlag Unterbefunde an Kupfer, da die adsorbierten Kupfer(II)-Ionen den Redoxindicator nicht zu oxydieren vermögen. In einer austitrierten Lösung, in der die „freien" Kupfer(II)-Ionen komplex gebunden sind, wird das Adsorptionsgleichgewicht gestört. Aus diesem Grunde werden innerhalb weniger Minuten wieder adsorbierte Kupfer(II)-Ionen zur Oxydation des Redoxindicators frei, so daß der Farbumschlag nach Violett zurückläuft.

Eisen(III)-Ionen lassen sich mit Ammoniumfluorid maskieren. Titrationen, bei denen bis zu 170 mg Fe^{3+} mit 1,2 g Ammoniumfluorid komplex gebunden wurden, ergaben bei einem unverändert scharfen Farbumschlag ausgezeichnete Werte. Bei gleicher Maskierung wurden in Gegenwart von 30 mg Aluminium wahrscheinlich durch Adsorption Unterbefunde erhalten. Weitere Ionen, die stören, gehören den Elementen Blei, Zink, Cadmium, Nickel, Kobalt und Mangan an.

Zusammenfassung

Mit 0,1 m Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA) lassen sich in Lösungen, die viel Natriumacetat und Ammoniumrhodanid enthalten,

bis zu 150 mg Kupfer(II)-Ionen gegen den Redoxindicator Variaminblau *B*-Base titrieren. Der optimale Arbeitsbereich liegt bei p_H 5,5. Eisen(III) stört nicht, wenn es mit Ammoniumfluorid getarnt wird. Nicht zu große Erdalkalikonzentrationen sind ohne Einfluß auf das Titrationsergebnis.

Die inverse Titration von EDTA mit Kupfer(II)-chloridmaßlösung ermöglicht die indirekte Bestimmung einiger Metall-Ionen, die vorher bei p_H 4,5—6,0 mit überschüssiger EDTA umgesetzt werden.

Ferner werden weitere Untersuchungsergebnisse zur Verwendung des Kupfer(II)/Kupfer(I)-Redoxsystems in der Chelatometrie mitgeteilt.

Über direkte Titrationen von Zink- und Bleisalzlösungen mit EDTA, die in Gegenwart von etwas Kupfer(II)-rhodanid und von Variaminblau *B*-Base bei p_H 5,5 möglich sind, soll später berichtet werden.

Herrn Prof. Dr. L. Erdey, Budapest, sei vielmals für die Überlassung von Variaminblau *B*-Base gedankt. Dem freundlichen Entgegenkommen der Badischen Anilin- & Sodafabrik A.G., Ludwigshafen a. Rhein, verdanke ich das Trilon *BS*. Herrn W. Johannsen, Leiter des Laboratoriums der Metallhütte Mark A.G., bin ich für das dieser Arbeit entgegengebrachte Interesse verpflichtet.

Literatur.

[1] Cheng, K. L., u. R. H. Bray: Analyt. Chem. **27**, 782 (1955); vgl. diese Z. **149**, 138 (1956). — [2] Erdey, L., u. A. Bodor: diese Z. **137**, 410 (1952/53). — [3] Erdey, L., E. Bodor u. M. Pápay: Acta chim. Acad. Sci. hung. **5**, 238 (1955); vgl. diese Z. **148**, 141 (1955). — [4] Flaschka, H.: Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta (Wien) **39**, 38 (1952); vgl. diese Z. **137**, 453 (1953). — [5] Flaschka, H., u. W. Franschitz: diese Z. **144**, 421 (1955). — [6] Pfeiffer, P., u. E. Schmitz: Z. anorg. Chem. **258**, 247 (1949). — [7] Přibil, R.: Komplexometrie, S. 40. Chemapol-Broschüre, Prag 1954. — [8] Přibil, R., Z. Koudela u. B. Matyska: Collect. czechoslov. chem. Commun. **16**, 80 (1951); vgl. diese Z. **135**, 360 (1952). — [9] Schwarzenbach, G.: Die komplexometrische Titration, Enke, Stuttgart 1955. — [10] Schwarzenbach, G.: Komplexon-Methoden, Prospekt der Fa. B. Siegfried A. G., Zofingen, Schweiz. — [11] Suk, V., M. Malát u. A. Jeníčková: Collect. czechoslov. chem. Commun. **20**, 158 (1955); Chem. Listy **48**, 1511 (1954); vgl. diese Z. **147**, 70 (1955). — [12] Theis, M.: diese Z. **144**, 275 (1955). — [13] Wehber, P.: Mikrochim. Acta (Wien). im Druck. — [14] Wehber, P.: diese Z. **149**, 161 (1956).

P. Wehber, Kiel, Lantziusstr. 13

Aus dem Institut für allgemeine Chemie der Technischen Universität in Budapest

Komplexometrische Eisenbestimmung in Anwesenheit von Variaminblau als Indicator

Von

LADISLAUS ERDEY und GEORG RÁDY

(Eingegangen am 14. Oktober 1955)

Von den von G. SCHWARZENBACH u. Mitarb[11]. untersuchten komplexbildenden organischen Verbindungen fand das Dinatriumsalz der Äthylendiamintetraessigsäure in kurzer Zeit einen weitverbreiteten Einsatz in allen Zweigen der analytischen Chemie. Seine Anwendung als Maßlösung ermöglichte nicht nur die maßanalytische Bestimmung zahlreicher Metall-Ionen (Chelatometrie[9]), sondern mit der Einführung der Metallindicatoren auch die Titration solcher Ionen, die vorher nur mit Hilfe schwieriger und langwieriger klassischer Verfahren bestimmt werden konnten.

Die komplexometrische Titration der Eisen(III)-Ionen wurde bereits von mehreren Forschern bearbeitet, die zur Endpunktsindication verschiedene Indicatoren gebrauchten. So wandten G. SCHWARZENBACH u. A. WILLI[12] Tiron, P. LYDERSEN[7] Rhodanid, H. FLASCHKA[5] Sulfosalicylsäure und K. L. CHENG, R. H. BRAY und T. KURTZ[1] Salicylsäure als Indicatoren an. Das Wesen dieser Verfahren besteht darin, daß das Eisen(III)-komplexonat viel beständiger ist als die mit den angeführten Indicatoren gebildeten farbigen Eisenverbindungen, so daß im Endpunkt die Maßlösung die Eisen(III)-Ionen aus den Indicatorkomplexen vollständig verdrängt. Im Endpunkt ist daher die Lösung gemäß der Farbe des Eisen(III)-komplexonats entweder farblos oder gelb gefärbt. K. L. CHENG u. Mitarb[1]. befaßten sich auch mit der Bestimmung des Eisens in Anwesenheit von anderen Metallen und stellten fest, daß die meisten Schwermetall-Ionen in den angegebenen Konzentrationen nicht stören.

Die Bestimmung der Eisen(III)-Ionen mittels Komplexon III-maßlösung und potentiometrischer Endpunktsindication wurde von R. PŘIBIL u. Mitarb[10]. ausgearbeitet. Das Prinzip ihrer Methode liegt darin, daß zufolge der Bildung des überaus stabilen Eisen(III)-komplexonats die Eisen(III)-Ionen im Endpunkt praktisch vollständig verschwinden, wodurch sich das Redoxpotential des Systems sprunghaft herabsetzt.

In Kenntnis der Redoxindicatoreigenschaften von dem bei der ascorbinimetrischen[2] und colorimetrischen[3] Eisenbestimmungen mit gutem Erfolg verwendeten Variaminblau stand es zu erwarten, daß obige Redoxpotentialänderung auch mit einer mit Indicator erfolgenden Endpunktsindication gut angezeigt, und derart auch die Titration ausgeführt werden

kann. Unsere diesbezüglichen Ergebnisse wurden wegen einiger im Laufe unserer Arbeit aufgetauchten Probleme bis jetzt nicht veröffentlicht. Inzwischen arbeitete H. Flaschka, der aus unseren Arbeiten die vorteilhaften Eigenschaften des Variaminblau kennenlernte, die Methode im Mikromaßstab[6] mit sehr gutem Erfolg aus. Auf Grund unserer mit dem Indicator erworbenen Erfahrungen fanden wir, daß die Methode sich auch im Makromaßstab gut anwenden läßt; es gelang uns außerdem auch in bezug auf den Reaktionsverlauf Feststellungen zu ermitteln. Über unsere Ergebnisse wird in der vorliegenden Arbeit berichtet.

Reagentien

Komplexon III-maßlösung. 18,610 g Dinatriumsalz der Äthylendiamintetraessigsäure (p. a.) werden in bidestilliertem Wasser (oder in mit Hilfe von Ionenaustauscher gereinigtem Wasser) auf 1000 ml gelöst. Die Molarität dieser Lösung beträgt 0,05 und 1 ml der Lösung ist 0,05 mMol eines zwei- oder dreiwertigen Metall-Ions äquivalent.

Obwohl sich die Maßlösung durch genaue Einwaage bereiten läßt, wird ihr Titer auf eine Calcium- oder Magnesiumlösung bekannter Konzentration in Anwesenheit von Murexid bzw. Eriochromschwarz T als Indicator in alkalischer Lösung oder noch vorteilhafter auf die Lösung einer abgewogenen Menge von metallischem Wismut (p. a.) in Salpetersäure unter Verwendung von Brenzcatechinsulfophthalein als Indicator[8] eingestellt. Enthält die Maßlösung oder das angewandte destillierte Wasser keine Metall-Ionen (besonders Calcium oder Magnesium) so liefern die auf verschiedene Weise vorgenommenen Titerkontrollen vollkommen übereinstimmende Ergebnisse. Die Maßlösung ist — falls sie aus der zur Aufbewahrung richtig vorbereiteten Flasche keine Metall-Ionen auslösen kann — titerbeständig.

Eine 0,01 m Maßlösung kann durch Verdünnen der 0,05 m Lösung oder durch Abwägen der berechneten Menge von festem Komplexon III hergestellt werden.

Eisen(III)-lösung. Zur Herstellung der 0,1 m Lösung löst man die berechnete Menge von krist. Eisen(III)-chlorid (p. a.) in destilliertem Wasser, oxydiert mit einigen Tropfen Wasserstoffperoxyd und bringt mit Wasser auf Volumen. Der p_H-Wert der Lösung beträgt ungefähr 1. Der Eisen(III)-gehalt der Lösung wurde nach Mohr jodometrisch und in Anwesenheit von Variaminblau als Indicator ascorbinimetrisch[2] bestimmt. Ein Milliliter dieser Lösung enthielt 5,764 mg Fe.

Durch Verdünnen dieser Lösung wird — nach Zugabe von einigen Millilitern konzentrierter Salzsäure — die 0,01 m Eisen(III)-stammlösung bereitet.

Der Indicator. Der Variaminblau-Indicator (Variaminblau B-Base*) wird in „fester Verdünnung" bereitet, indem man den Farbstoff mit Natriumchlorid oder Kaliumsulfat (p. a.) in einem Verhältnis von 1 : 300 in fein pulverisiertem Zustand vermischt. Zu den einzelnen Bestimmungen werden je 0,2 g aus dieser Mischung abgewogen und vorsichtig in die Lösung gestreut.

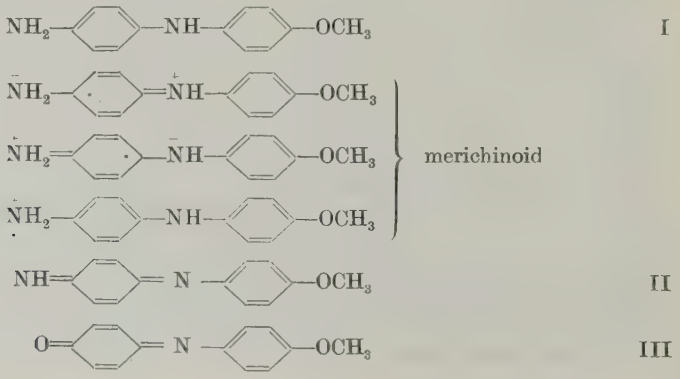
Die bis zur Zeit ausgearbeiteten komplexometrischen Eisenbestimmungsmethoden, die zur Endpunktsanzeige Farbindicatoren gebrauchen, arbeiten ausschließlich im p_H-Bereich von 2—3. Nur R. Přibil u. Mitarb.[10] empfehlen für ihr mit potentiometrischer Endpunktsindication ausgeführtes Verfahren, die Bestimmung in einer mit Acetat abgestumpften Lösung ungefähr bei dem p_H-Wert 5 vorzunehmen.

* Erhältlich durch die Exportfirma „Medimpex", Budapest V., Falk M.-u. 1.

Um das geeignete p_H-Gebiet der mit Variaminblau-Redoxindicator auszuführenden Bestimmung zu ermitteln, wurden die Titrationen bei verschiedenen p_H-Werten durchgeführt. Je 20,0 ml 0,01 m Eisen(III)-lösung wurden in 300 ml-Erlenmeyer-Kolben mit verschiedenen Mengen von 1n Salzsäure-Essigsäure-Natriumacetatpuffer bzw. 1 n Natriumacetatlösung versetzt. Die Lösungen wurden sodann mit destilliertem Wasser auf 100 ml verdünnt und ihr p_H-Wert gemessen. Anschließend wurden 0,2 g Variaminblau-Indicator in die Kolben gestreut und die violette (u. U. rote) Lösung bei Zimmertemperatur mit 0,01 m Komplexon III-lösung bis zur rein gelben Farbe titriert. Gegen Ende der Titration muß die Maßlösung der zu titrierenden Lösung tropfenweise zugefügt werden.

Im p_H-Gebiet vom 1,7—2,8 stimmten die erhaltenen Ergebnisse innerhalb einer Fehlergrenze von $\pm$ 0,5% mit dem theoretischen Werte überein. Bei niedrigeren p_H-Werten wurden die theoretischen Werte nicht erreicht. In diesen Lösungen, die man schon an der veränderten Farbe des Indicators erkennt, tritt der Farbumschlag sehr verzögert ein oder die Farbe des Indicators verschwindet weit vor dem Endpunkt, obwohl auf weitere Indicatorzugabe die Lösung noch immer ein oxydierendes Medium anzeigt. Dieses Verhalten konnte nach den bekannten Eigenschaften des Indicators[4] erwartet werden, da sich der Indicator in Anwesenheit von Eisen(III)-Ionen bei $p_H < 2$ allmählich irreversibel zu einem zuerst roten, sodann farblosen Produkt zersetzt.

Die Oxydation der Grundverbindung(I) verläuft nämlich bei höheren p_H-Werten als 2 eindeutig zunächst zu einer blauen merichinoiden Form, die im p_H-Bereich von 2—6 stabil ist. In stark sauren Lösungen kann die Erscheinung der blauen Farbe überhaupt nicht oder nur teilweise wahrgenommen werden. Dies ist damit zu erklären, daß einerseits in solchen Fällen die merichinoide Form sich nur teilweise bzw. überhaupt nicht zeigt, andererseits die rotfarbige oxydierte Form(II) sich zufolge der hydrolysierenden Einwirkung der sauren Lösung irreversibel zersetzt und sich zum Teil ein Chinonanylderivat(III) bildet, dessen wäßrige Lösung eine gelbliche Farbe aufweist. Über dem p_H-Wert 6 zeigt der Indicator eine gelbe Farbe.



I

II

III

Obwohl es zu erwarten ist, daß auch in dem von uns zur Eisenbestimmung vorgeschlagenem p_H-Bereich (1,7—2,8) der Indicator sich auf Einwirkung der Eisen(III)-Ionen in geringem Maße zersetzt — was nach einer längeren Zeitdauer einen meßbaren Fehler bewirken kann — äußert sich dieser Fehler bei einer nicht verzögerten Titration nur in unbedeutender Weise. Demzufolge kann die Indicatorzugabe schon am Anfang der Titration erfolgen im Gegensatz zu der ascorbinimetrischen Eisenbestimmung, bei welcher in viel stärker saurem Gebiet gearbeitet wird und demgemäß die Zersetzung des Indicators in größerem Maße erfolgt.

Bei höheren p_H-Werten als 3 erhält man zu niedrige Titrationsergebnisse, obwohl der Indicator auch in diesem p_H-Gebiet ausgezeichnet anspricht. Die Reaktion zwischen den Eisen(III)-Ionen und der Maßlösung wird offenbar wegen Bildung von kolloidalem Eisenhydroxyd oder basischem Eisenacetat sehr gehemmt, wodurch der Indicator bedeutend früher als im Äquivalenzpunkt umschlägt. Nach Verlauf einer gewissen Zeit tritt die violette Farbe der oxydierten Form des Indicators wieder auf, zum Zeichen daß die Titration noch nicht beendet ist. Das Wiedererscheinen der Indicatorfarbe kann nicht der Einwirkung des Luftsauerstoffes, sondern den aus dem Komplex dissoziierenden Eisen(III)-Ionen zugeschrieben werden.

Einen sehr wesentlichen Teil des Bestimmungsverfahrens bildet daher die p_H-Einstellung auf den gewünschten Wert zwischen 1,7 und 3,0. Seine Einstellung mit Hilfe von Kongopapier — die bei den übrigen Eisenbestimmungsmethoden empfohlen wird — ist etwas umständlich. Dagegen haben sich die in der Arbeitsvorschrift (s. u.) angegebenen Methoden gut bewährt. Die Titrationen werden am besten bei Zimmertemperatur durchgeführt. Versuche, bei 40—50° C zu titrieren, hatten keine günstigen Ergebnisse. Durch die Temperaturerhöhung wird wohl die sonst langsame Bildung des Eisen(III)-komplexonats in geringem Maße beschleunigt, doch tritt in der warmen Lösung in vielen Fällen schon bei p_H-Werten unter 3 Hydrolyse ein.

Arbeitsvorschrift

Ein bekannter Teil der zu titrierenden Lösung wird in einem 200—300 ml-Kolben tropfenweise mit 10%iger Ammoniumhydroxydlösung versetzt, bis die Lösung von dem ausfallenden Niederschlag ständig trüb bleibt. Danach kann die Lösung auf den gewünschten p_H-Bereich 1,7 bis 3 auf zweierlei Art eingestellt werden. Entweder löst man den Niederschlag durch Zugabe von einigen Tr. Salzsäure (1 + 1) (eine langsam vor sich gehende Reaktion!), versetzt dann tropfenweise mit einer 20%igen Natriumacetatlösung bis zum Erscheinen der roten Farbe des Eisenacetatkomplexes und gibt schließlich 2 Tr. Salzsäure (1 + 1) zu, wodurch sich die Lösung blaßgelb färbt. Das zweite Verfahren der p_H-Einstellung besteht darin, daß man der niederschlaghaltigen Lösung genügend Ameisensäure (etwa 1—5 ml 2 n Lösung)

Tabelle 1. *Genauigkeit der Titration in 0,01 m Lösungen*

x ml 0,01 m Fe^{3+}-Lösung (F = 1,032) titriert in 100 ml Endvolumen mit 0,01 m Komplexon III-lösung in Anwesenheit von Variaminblau als Indicator

Vorgelegte Menge 0,01 n Fe^{3+}-Lösung ml	Verbrauch an Komplexon III-lösung ml		Mittelwert ml	Theor. Wert Fe^{3+} mg	Gefunden Fe^{3+} mg	Abweichung %
5,00	5,14	5,23	5,22	2,88	2,91	+ 1,0
	5,22	5,24				
	5,26					
10,00	10,29	10,33	10,30	5,76	5,75	- 0,2
	10,31	10,28				
	10,29	10,31				
15,00	15,38	15,40	15,39	8,64	8,58	— 0,7
	15,48	15,42				
	15,35	15,30				
20,00	20,69	20,63	20,64	11,52	11,53	+ 0,1
	20,70	20,69				
	20,54	20,48				
	20,62	20,58				
	20,57	20,75				
	20,74	20,74				
25,00	26,04	26,00	26,00	14,40	14,52	+ 0,84
	26,05	25,96				
	26,00					
30,00	31,06	31,02	31,03	17,28	17,33	+ 0,3
	31,04	31,04				
	31,00					

zufügt, um im Titrationsendpunkt eine zwischen 0,1—0,01 n liegende Ameisensäurekonzentration zu erhalten. Die zu titrierende Lösung wird sodann auf annähernd 100 ml verdünnt, mit 0,2 g Variaminblau-Indicator in fester Verdünnung versetzt und die Titration sofort mit 0,05 m bzw. 0,01 m Komplexon III-lösung begonnen. Die Maßlösung wird anfangs rasch, gegen Ende der Titration tropfenweise bis zum vollständigen Umschlag nach Gelb der Lösung zugefügt.

Unter Anwendung dieser Arbeitsvorschrift wurden verschiedene Mengen von 0,1 und 0,01 m Eisen(III)-lösungen titriert. Die Titrationsergebnisse sind in den Tabellen 1 und 2 zusammengestellt.

Genauigkeit der Methode

Zur Feststellung der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wurden zahlreiche Parallelbestimmungen nach der obigen Arbeitsvorschrift durchgeführt. Die in Tab. 1 unter 4 angegebenen Zahlen gehören zu einer Gruppe von 20 Parallelwerten. Sie zeigen, daß der in Prozenten ausgedrückte Fehler der Titration $\pm$ 0,112% und die Standardabweichung $\pm$ 0,104 ml betragen.

Tabelle 2. *Genauigkeit der Titration in 0,1 m Lösungen*
x ml 0,1 m Fe^{3+}-Lösung (F = 1,032) titriert in 100 ml Endvolumen mit 0,05 m Komplexon III-lösung in Anwesenheit von Variaminblau als Indicator

Vorgelegte Menge 0,1 n Fe^{3+}-Lösung ml	Verbrauch an Komplexon III-lösung ml		Mittelwert ml	Theor. Wert Fe^{3+} mg	Gefunden Fe^{3+} mg	Abweichung %
5,00	10,28	10,26	10,274	28,81	28,69	— 0,4
	10,28	10,27				
	10,28					
10,00	20,63	20,65	20,638	57,64	57,63	— 0,02
	20,63	20,63				
	20,64					
15,00	31,03	31,05	31,03	86,45	86,65	+ 0,23
	31,02	31,03				
	31,02					
20,00	41,32	41,30	41,34	115,28	115,44	+ 0,15
	41,36	41,35				
	41,38					

Einfluß fremder Ionen

Die in Anwesenheit von Variaminblau-Indicator durchgeführte Eisen(III)-bestimmung wird mehr oder weniger von jenen Kationen gestört, die in saurer Lösung mit dem Äthylendiamintetraacetat einen stabilen Komplex bilden, unabhängig davon, ob die Metalle in dem gegebenen p_H-Bereich in ionisierter Form (z. B. Kupfer) oder in hydrolysierter Form (z. B. Wismut) zugegen sind. Außerdem üben sämtliche Anionen eine störende Wirkung aus, die mit Eisen einen ähnlich starken oder noch stärkeren Komplex bilden wie die angewandte Maßlösung.

Hg^{2+}, Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+}, Mg^{2+}, K^+, Na^+, NH_4^+ stören nicht, wenn sie gegenüber dem Eisen im Molverhältnis 1:10 vorliegen. Zn^{2+} und Mn^{2+} bewirken im Molverhältnis 1:1 nur einen unwesentlichen Fehler, obgleich sie den Verlauf der Hauptreaktion und den Indicatorumschlag verzögern.

Das *Wismut-Ion* stört die Bestimmung, da sein Komplexonat in sauren Lösungen viel stabiler ist als das des Eisens [$Bi(OH)_3$, ja sogar das $BiPO_4$ lösen sich in KomplexonIII-lösung]. In Anwesenheit von *Kupfer-Ionen* (Molverhältnis 1:1) ist die Farbe der zu titrierenden verschieden von der einer reinen Eisenlösung. Die Farbe der Lösung wird im Laufe der Titration immer mehr und mehr grau, bis die beendigte Titration durch einen scharfen Umschlag nach Blaßgrün angezeigt wird. Es tritt dabei aber ein starker, der vorhandenen Kupfermenge proportionaler Überverbrauch an Maßlösung ein. Das *Kobalt-Ion* stört die Titration teils wegen seiner Eigenfarbe, teils wegen der tiefen Farbe des sich bildenden Komplexonats dermaßen, daß der Endpunkt überhaupt nicht wahrgenommen werden

kann. In Anwesenheit von *Nickel-Ionen* (Molverhältnis 1:1) wird nur ein geringfügiger Überverbrauch an Maßlösung beobachtet. *Cadmium-*, *Aluminium-* und zum Teil auch *Zink-Ionen* bewirken beträchtliche Mehrverbrauche an Maßlösung. Unserer Meinung nach üben diese Ionen ihre störende Wirkung teils wegen Komplexonatbildung, teils wahrscheinlich auch wegen einer mit dem Indicator sich bildenden Verbindung aus.

Von den Anionen stören die Cl^--, SO_4^{2-}, CH_3COO^--Ionen nicht. Die Anwesenheit von NO_3^- in einem Molverhältnis von 1:10 verursacht keinen bedeutenden Fehler, es wird bloß ein geringfügiger Überverbrauch an Maßlösung beobachtet. Die F^- und PO_4^{3-}-Ionen stören stark, da sie in Abhängigkeit ihrer Konzentration die Hauptreaktion verzögern.

Titration von KomplexonIII mit Eisen(III)-lösung

Es wurde versucht, bekannte Mengen von Komplexon III-lösung mit Eisen(III)-maßlösung in Anwesenheit von Variaminblau als Indicator zu titrieren. Die bei Zimmertemperatur und p_H 1,7—3 ausgeführten Titrationen ergaben aber einen beträchtlichen Überverbrauch an Maßlösung. In warmen Lösungen (50° C) vermindert sich zwar der Fehler, doch ist der Maßlösungsverbrauch auch hier um einige Prozente höher als der theoretische Wert. Diese Erscheinungen werden vermutlich dadurch verursacht, daß zur Erhöhung des Redoxpotentials der Lösung ein gewisser Eisen(III)-Ionenüberschuß erforderlich ist. Erst dann tritt Oxydation des Indicators und damit der Farbumschlag ein. Nach früheren Versuchen[2] vollzieht sich nun der Farbumschlag von Variaminblau bei niedrigerem Redoxpotential, wenn der p_H-Wert der Lösung erhöht wird. Demnach war bei der Titration in schwächer saurer Lösung eine Verbesserung der Analysenwerte zu erwarten. Die durchgeführten Versuche bestätigten dies. Die günstigsten Verhältnisse liegen in dem p_H-Bereich 3—4,5 vor. In Anwesenheit von überschüssigem Komplexon III ist bei diesen p_H-Werten Hydrolyse des Eisen(III)-salzes selbst in warmer Lösung nicht zu befürchten. Man titriert also eine Komplexon(III)-lösung mit Eisen(III)-lösung bei p_H 3—4,5 und 50° C unter Verwendung des Variaminblau-Indicators. Der Fehler der Titration beträgt 1—2%. Das Verfahren kann zur Bestimmung verschiedener Metall-Ionen dienen. Man versetzt sie mit einem Überschuß an KomplexonIII-lösung und titriert den unverbrauchten Rest mit Eisen(III)-lösung zurück.

Die vor einigen Tagen veröffentlichte Arbeit von P. Wehber[13] löst das Problem der Komplexontitration mit Eisen(III)-lösung auf geistvolle Weise. Der Fehler wird dadurch beseitigt, daß die stets vorhandenen Eisen(II)-Ionen mit Hilfe von 2,2'-Dipyridylkomplex gebunden werden. Auf diese Art können zahlreiche Metall-Ionen komplexometrisch gut bestimmt werden.

Zusammenfassung

Untersuchungen wurden ausgeführt, um die Genauigkeit der mit Komplexon III-maßlösung in Anwesenheit von Variaminblau als Redoxindicator erfolgenden Bestimmung der Eisen(III)-Ionen und den Einfluß der fremden Ionen zu ermitteln. Es ergab sich dabei, daß die Titration sich in 0,1 und 0,01 m Lösungen im p_H-Bereich zwischen 1,7—2,8 mit einem relativen Fehler von $\pm$ 0,112% und einer Standardabweichung von $\pm$ 0,104 ml bei Zimmertemperatur ausführen läßt. Die Titration wird aber von zahlreichen Fremd-Ionen gestört. In Anwesenheit von Kupfer, Wismut und Kobalt versagt das Verfahren, wenn die Metalle gegenüber dem Eisen im Molverhältnis von 1:1 vorliegen; Cadmium, Aluminium und zum Teil auch Zink stören erst in größeren Konzentrationen. Fluorid- und Phosphat-Ionen bewirken in Abhängigkeit von ihrer Konzentration bedeutende Verzögerungen der Hauptreaktion. Nitrat-Ionen stören in einem Molverhältnis von 1:10 nicht.

Es wurde weiterhin festgestellt, daß die Lösung von Komplexon III in Anwesenheit von Variaminblau als Indicator sich mit einer Eisen(III)-maßlösung titrieren läßt, wenn man in dem p_H-Bereich zwischen 3 bis 4,5 und bei annähernd 50° C arbeitet. Der Fehler dieser Titration beträgt 1—2%.

Literatur

[1] Cheng, K. L., R. H. Bray and T. Kurtz: Analyt. Chemistry **25**, 347 (1953); vgl. diese Z. **144**, 235 (1955). — [2] Erdey, L., u. E. Bodor: diese Z. **137**, 410 (1952/53). — [3] Erdey, L., u. F. Szabadváry: Acta chim. Acad. Sci. hung. **6**, 131 (1955). — [4] Erdey, L., E. Zalai u. E. Bodor: Ber. Ung. Forsch.-Inst. Chem. Ind. IV., **16** (1954). — [5] Flaschka, H.: Mikrochem. verein. Mikrochim Acta **39**, 38 (1952); vgl. diese Z. **137**, 453 (1952/53). — [6] Flaschka, H.: Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 361; vgl. diese Z. **144**, 397 (1955). — [7] Lydersen, D., u. O. Gjems: diese Z. **138**, 249 (1953). — [8] Malát, M., V. Suk u. O. Ryba: Chem. Listy **48**, 203 (1954); vgl. diese Z. **144**, 40 (1955). — [9] Přibil, R.: Chem. Listy **47**, 1173 (1953); vgl. diese Z. **142**, 455 (1954). — [10] Přibil, R., Z. Koudela u. B. Matyska: Chem. Listy **44**, 222 (1950); Collect. czechoslov. chem. Commun. **16**, 80 (1951); vgl. diese Z. **135**, 360 (1952). — [11] Schwarzenbach, G., E. Kampitsch u. R. Steiner: Helv. chim. Acta **28**, 823 (1945). — [12] Schwarzenbach, G., u. A. Willi: Helv. chim. Acta **34**, 528 (1951). — [13] Webber, P.: Mikrochim. Acta **1955**, 812.

Prof. Dr. L. Erdey, Techn. Universität, Budapest XI, Gellért tér 4

Aus dem Institut für Silicathüttenkunde der Bergakademie Freiberg (Sachsen)
(Direktor: Prof. Dr. Th. Haase)

Notizen zur Cerimetrie. I

Die cerimetrische Titration sehr kleiner Mengen zweiwertigen Eisens in Gegenwart einiger oxydabler Ionen

Von
Armin Petzold

(Eingegangen am 31. Oktober 1955)

Die cerimetrische Titration ist ein bekanntes Verfahren, um zweiwertiges Eisen schnell und sicher zu bestimmen. Die hierüber angestellten Untersuchungen und veröffentlichten Ergebnisse beziehen sich aber größtenteils auf höhere Eisengehalte (mehrere Zentigramme) in Abwesenheit reduzierender Metall-Ionen[2,5,6]. Neuere Arbeiten von R. Lang u. I. Fürstenau[4] berücksichtigen zwar die Gegenwart von Arsen(III) und Antimon(III), enthalten aber Beleganalysen mit verhältnismäßig großen Eisenmengen. Bei cerimetrischen Halbmikro- und Mikrobestimmungen, die im Schrifttum nur spärlich vertreten sind[1,7], wird lediglich in Abwesenheit von oxydablen Metall-Ionen titriert.

Bei der Bearbeitung toxikologisch-analytischer Probleme waren sehr kleine Mengen zweiwertigen Eisens neben ebenfalls geringen Mengen dreiwertigen Arsens, dreiwertigen Antimons und zweiwertigen Zinns zu bestimmen bzw. die Möglichkeit einer solchen Bestimmung zu prüfen. Über das Ergebnis dieser Versuche wird im folgenden berichtet.

1. Die cerimetrische Bestimmung des Eisens allein

Die Möglichkeit der cerimetrischen Mikrotitration des zweiwertigen Eisens ist bereits experimentell erprobt. Die folgenden Ausführungen haben daher nur bestätigenden Charakter.

Verwendet wurden verdünnte, schwach schwefelsaure $FeSO_4$-Lösungen, deren Gehalte an Eisen(II) durch Titration mit $KMnO_4$ ermittelt worden waren, und 0,01 n Cer(IV)-sulfatlösungen. Titriert wurde bei Zimmertemperatur, als Indicator diente Ferroin.

Die Werte der Tab. 1 bestätigen die bekannte Erfahrung, daß es gelingt, auch sehr geringe Mengen zweiwertigen Eisens mit Cer(IV)-sulfat zu titrieren. Hierbei läßt sich Ferroin vorzüglich als Indicator verwenden. Das Titriervolumen wurde zur Ausschaltung von Fehlern sehr klein gehalten. Bei derartig geringen Eisengehalten war es unerläßlich, den Blindverbrauch an Maßflüssigkeit, der durch die Lösungsflüssigkeit und den Indicatorumschlag verursacht wird, zu ermitteln und vom Verbrauch

an titrierter Cer(IV)-sulfatlösung abzuziehen. In der Tab. 1 und allen folgenden Tabellen ist diese Korrektur berücksichtigt.

Tabelle 1. *Bestimmung von Eisen*
Gesamtvolumen 25 ml, angesäuert mit 1 ml 2 n Schwefelsäure

Fe gegeben	Fe gefunden	Differenz	
mg	mg	mg	%
0,10	0,11	+ 0,01	10
0,20	0,20	0	0
0,30	0,29	— 0,01	3
0,40	0,42	+ 0,02	5
0,50	0,51	+ 0,01	2
1,00	0,99	— 0,01	1
2,00	2,00	0	0
3,00	3,00	0	0

2. Die Eisentitration in schwefel- und salzsaurer, weinsäurehaltiger Lösung

Um die Bestimmung des Eisens in Gegenwart von größeren Mengen Antimon durchführen zu können, ist Weinsäure, die eine Hydrolyse des Antimons verhindert, in der Prüfflüssigkeit notwendig. Den Lösungen wurden, um den Einfluß der Weinsäure zu studieren, wechselnde Mengen 3%iger Weinsäurelösung zugesetzt; außerdem wurden, da Weinsäure allein in sehr schwach schwefelsaurer Lösung bereits merklich durch Cer(IV)-sulfat oxydiert wird, einige Milliliter Schwefelsäure (1:1) zugegeben. Die Titration erfolgte wie üblich.

Die Ergebnisse (Tab. 2) zeigen, daß unter den beschriebenen Bedingungen sehr gute Resultate zu erhalten sind. Selbst in nahezu reiner 3%iger Lösung von Weinsäure ergeben sich noch brauchbare Werte.

Tabelle 2. *Bestimmung von Eisen in schwefelsaurer, weinsäurehaltiger Lösung; Indicator: Ferroin*

Fe gegeben	Weinsäure-lösung	Schwefel-säure (1 : 1)	Gesamt-volumen	Fe gefunden	Differenz	
mg	(3%ig) ml	ml	ml	mg	mg	%
0,20	20	2	25	0,20	0	0
0,40	20	2	25	0,38	— 0,02	5
0,60	20	2	25	0,59	— 0,01	1,7
0,80	20	2	25	0,78	— 0,02	2,5
1,00	20	2	25	0,99	— 0,01	1
2,00	20	2	25	1,95	— 0,05	2,5
0,13	5	1	10	0,13	0	0
0,48	25	2	30	0,50	+ 0,02	4
1,32	50	2	55	1,25	— 0,07	5

Will man in salzsaurer Lösung titrieren, so ist die Verwendung von Ferroin als Indicator nicht zweckmäßig; namentlich in Gegenwart von Antimon fällt beim Titrieren ein rotes Pulver aus, das als Indicator natürlich unbrauchbar ist. In solchen Fällen kann Methylrot als Indicator

angewendet werden, das nach der vollständigen Oxydation des Eisens durch Cer(IV)-sulfat in einen bräunlichgelben Farbkörper übergeführt wird und damit das Ende der Titration anzeigt. Es muß allerdings festgestellt werden, daß der Umschlag etwas zögernd und allmählich erfolgt und seine Erkennung große Übung erfordert. Darüber hinaus muß im ganzen sehr vorsichtig und unter ständigem Umschwenken titriert werden da sonst — wie Furman[2] mitgeteilt hat — eine vorzeitige völlige Entfärbung des Indicators durch lokale Überoxydation eintreten kann. Blindtitrationen sind auch hier unerläßlich.

In Tab. 3 sind Beleganalysen zusammengestellt. Die Werte sind in einem relativ großen Bereich der Salzsäurekonzentration sehr brauchbar.

Tabelle 3.
Bestimmung von Eisen in weinsaurer, HCl-haltiger Lösung; Indicator: Methylrot

Fe gegeben mg	Konz. Salzsäure ml	Gesamtvolumen ml	Fe gefunden mg	Differenz mg	Differenz %
0,113	1	10	0,09	— 0,02	18
0,282	1	10	0,278	— 0,004	1,5
0,565	1	10	0,555	— 0,01	2
0,565	1	10	0,565	0	0
0,565	3	10	0,565	0	0
0,565	5	10	0,565	0	0
0,565	7	15	0,560	— 0,005	1

3. Die Eisenbestimmung in Gegenwart von dreiwertigem Antimon in schwefelsaurer Lösung

Den Eisen(II)-sulfatlösungen wurden zur Prüfung des Einflusses von dreiwertigem Antimon wechselnde Mengen $SbCl_3$ (in schwach weinsaurer Lösung) zugegeben. Titriert wurde gegen Ferroin. Die Werte der Tab. 4 zeigen, daß auch bei einem fast zehnfachen Überschuß an Antimon das zweiwertige Eisen sehr genau zu bestimmen ist.

4. Die Titration von Eisen neben Antimon in weinsaurer Lösung

Die Titrationen wurden in Lösungen durchgeführt, die 3% Weinsäure und verschiedene Mengen von dreiwertigem Antimon enthielten. Ein Zusatz von stärkerer Schwefelsäure erwies sich auch hier als notwendig. Als Indicator diente Ferroin.

Tab. 5 enthält die Ergebnisse mehrerer Analysen. Bis auf einige Ausnahmen sind die Werte zweifellos als sehr gut zu bezeichnen.

5. Die Bestimmung von Eisen in Gegenwart von dreiwertigem Arsen

K. Gleu[3] hat bereits vor Jahren gezeigt, daß eine Oxydation des dreiwertigen Arsens und damit dessen cerimetrische Bestimmung in schwefelsaurer Lösung nur bei Anwesenheit von Osmiumtetroxyd als Katalysator möglich ist. Lang u. Fürstenau[4] haben dies neuerdings

Tabelle 4. *Bestimmung von Eisen neben dreiwertigem Antimon in schwefelsaurer Lösung; Indicator: Ferroin*

Fe gegeben	Sb^{III}	2n Schwefelsäure	Gesamtvolumen	Fe gefunden	Differenz	
mg	mg	ml	ml	mg	mg	%
0,20	0,33	1	25	0,19	— 0,01	5
0,40	0,33	1	25	0,39	— 0,01	2,5
1,00	0,33	1	25	1,01	+ 0,01	1
0,20	0,65	1	25	0,20	0	0
0,50	0,65	1	25	0,50	0	0
1,00	0,65	1	25	1,01	+ 0,01	1
0,20	1,30	1	25	0,19	— 0,01	5
0,50	1,30	1	25	0,50	0	0
1,00	1,30	1	25	1,01	+ 0,01	1
0,20	2,00	1	25	0,21	+ 0,01	5
0,50	2,00	1	25	0,50	0	0
1,00	2,00	1	25	1,00	0	0
1,33	2,60	2	30	1,32	— 0,01	0,8
1,33	5,20	2	40	1,32	— 0,01	0,8
1,33	10,40	2	50	1,34	+ 0,01	0,8

Tabelle 5. *Bestimmung von Eisen neben dreiwertigem Antimon in weinsaurer, H_2SO_4-haltiger Lösung; Indicator: Ferroin*

2 ml Schwefelsäure (1:1) + 20 ml 3%ige Weinsäurelösung im Titrationsvolumen

Fe gegeben	Sb^{III}	Ges.-Vol.	Fe gefunden	Differenz	
mg	mg	ml	mg	mg	%
0,50	0,32	25	0,47	— 0,03	6
0,50	0,65	25	0,51	+ 0,01	2
0,50	1,30	25	0,50	0	0
0,60	1,30	25	0,59	— 0,01	1,7
1,00	0,32	25	0,97	— 0,03	3
1,00	0,65	25	1,08	+ 0,08	8
1,00	0,65	25	0,97	— 0,03	3
1,00	1,30	25	0,97	— 0,03	3
1,00	2,60	25	0,99	— 0,01	1
2,00	0,65	25	1,92	— 0,08	4
2,00	2,60	25	1,90	— 0,10	5
1,00	1,30	25	0,99	— 0,01	1
1,02	1,95	25	1,01	— 0,01	1
1,00	2,60	25	0,99	— 0,01	1
1,00	3,25	25	1,00	0	0
1,00	3,90	30	0,97	— 0,03	3
1,00	6,50	30	0,99	— 0,01	1

wieder bestätigt. Die Versuche wurden seinerzeit nur mit verhältnismäßig großen Arsenmengen und mit starker (0,1 n) Cer(IV)-sulfatlösung durchgeführt. Daß dieselben Verhältnisse auch bei kleinen Arsen-

konzentrationen und bei Verwendung von 0,01 n Cer(IV)-sulfatlösung vorliegen würden, war nicht ohne weiteres vorherzusagen. Aus diesem Grunde wurde dieser Fall in Verbindung mit der Eisentitration nachgeprüft.

Die Prüflösungen waren schwach schwefelsauer und enthielten wechselnde Mengen dreiwertigen Arsens, das in Form einer angesäuerten Arsenitlösung zugegeben wurde. Die Indication erfolgte durch Ferroin; titriert wurde bei Raumtemperatur.

Tab. 6 bringt die Ergebnisse. Es zeigt sich, daß die Resultate bei Gegenwart sowohl kleiner, als auch relativ großer Mengen dreiwertigen Arsens brauchbar sind. Unter den beschriebenen Umständen wird demnach Arsen(III) nicht im geringsten oxydiert, so daß in diesem Fall eine exakte Bestimmung des Eisens möglich ist.

Tabelle 6. *Bestimmung von Eisen neben dreiwertigem Arsen in schwefelsaurer Lösung; Indicator: Ferroin*
Gesamtvolumen 25 ml, angesäuert mit 1 ml 2 n Schwefelsäure

Fe gegeben	As^{III}	Fe gefunden	Differenz	
mg	mg	mg	mg	%
0,20	0,35	0,21	+ 0,01	5
0,50	0,35	0,50	0	0
1,00	0,35	0,99	— 0,01	1
0,50	1,1	0,50	0	0
1,00	1,1	0,99	— 0,01	1
0,10	3,5	0,10	0	0
0,50	3,5	0,50	0	0
0,20	11,0	0,20	0	0
0,50	11,0	0,50	0	0

6. Die Bestimmung des Eisens neben zweiwertigem Zinn

Da Lang u. Fürstenau[6] ihre Eisentitrationen lediglich in Gegenwart von vierwertigem Zinn (Pinksalz) durchgeführt haben, blieb neben Arsen und Antimon noch der Einfluß des zweiwertigen Zinns auf die Bestimmung des Eisens zu untersuchen. Die Titration erfolgte in schwach schwefelsaurer Lösung mit Ferroin als Indicator. Das Zinn wurde in Form einer salzsauren $SnCl_2$-Lösung zugegeben. Außer den hierbei in die Analysenflüssigkeit gelangenden geringen HCl-Mengen wurde keine Salzsäure weiter zugefügt, da eine nennenswerte Hydrolyse der sehr kleinen Zinn(II)-Mengen nicht zu erwarten war.

In Tab. 7 sind die Werte der Beleganalysen dargestellt. Es ist hieraus ersichtlich, daß sich die Anwesenheit des zweiwertigen Zinns unter gewissen Bedingungen sehr störend bemerkbar macht. Doch zeigt sich ein deutlicher Gang in der Genauigkeit der Titration, derart, daß mit steigendem Verhältnis Fe/Sn die Ergebnisse immer besser werden. Bei einem

Verhältnis $< 2:1$ sind die Werte kaum noch brauchbar. Bei Zinngehalten um 2 mg in 25 ml Gesamtflüssigkeit war außerdem der Endpunkt und Indicatorumschlag unscharf. Immerhin ist eine Titration des Eisens bei Anwesenheit von weniger als 2 mg Sn^{++} und bei einem Fe/Sn-Verhältnis $> 2:1$ (bei sehr kleinen Zinnkonzentrationen auch schon bei einem Verhältnis von 1:1) mit ausreichender Genauigkeit möglich.

Tabelle 7. *Bestimmung von Eisen neben zweiwertigem Zinn in schwefelsaurer Lösung; Indicator: Ferroin*
Gesamtvolumen 25 ml; angesäuert mit 1 ml 2 n Schwefelsäure

Fe gegeben	Sn^{II}	Fe gefunden	Differenz		
mg	mg	mg	mg	%	
0,20	0,50	0,30	+ 0,10	50	
0,50	0,50	0,56	+ 0,06	12	
1,00	0,50	1,07	+ 0,07	7	
2,00	0,50	2,02	+ 0,02	1	
3,00	0,50	3,00	0	0	
0,20	1,00	0,30	+ 0,10	50	
0,50	1,00	0,70	+ 0,20	40	
1,00	1,00	1,10	+ 0,10	10	
2,00	1,00	2,06	+ 0,06	3	
3,00	1,00	3,04	+ 0,04	1,3	
0,20	2,00	0,70	+ 0,50	250	
0,50	2,00	0,90	+ 0,40	80	Umschlag unscharf
1,00	2,00	1,26	+ 0,26	26	
2,00	2,00	2,20	+ 0,20	10	
3,00	2,00	3,10	+ 0,10	3,3	

Im übrigen sind die Ergebnisse und Störungen durch Zinn(II) keineswegs überraschend. Gelingt es doch nach Literaturangaben[2], zweiwertiges Zinn mit Cer(IV)-sulfat titrimetrisch zu bestimmen, wobei Katalyse durch Osmiumtetroxyd gute Dienste leisten soll. Bemerkenswert ist aber immerhin die Tatsache, daß nach den obigen Angaben sehr kleine Mengen zweiwertigen Zinns durch Cer(IV)-sulfat offenbar noch nicht oxydiert werden.

Literatur

[1] Edmonds, S. M., and N. Birnbaum: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **12**, 60 (1940); vgl. diese Z. **122**, 215 (1941). — [2] Ausführliche Literaturangaben finden sich bei N. H. Furman: „Cer(IV)-Lösungen als maßanalytische Oxydationsmittel" in „Neuere maßanalytische Methoden", 3. Aufl. 1951, Bd. XXXIII der Sammlung „Die chemische Analyse", herausgegeben von W. Böttger, Verlag F. Enke, Stuttgart. — [3] Gleu, K: diese Z. **95**, 305 (1933). — [4] Lang, R., u. I. Fürstenau: diese Z. **133**, 72 (1951). — [5] Lang, R., u. I. Fürstenau: diese Z. **133**, 163 (1951). — [6] Lang, R., u. I. Fürstenau: diese Z. **133**, 331 (1951). — [7] van Nieuwenburg, C. J., u. H. B. Blumendal: Mikrochem. **18**, 39 (1935); vgl. diese Z. **107**, 287 (1936).

Dr. Armin Petzold, Freiberg (Sachsen), Agricolastraße 17

Aus der chemischen Untersuchungsanstalt der Stadt Nürnberg

Erfahrungen in der toxikologischen Analyse, insbesondere mit dem Verfahren von Feldstein und Klendshoj

Von

H. Pfeiffer und H. Diller

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 26. Oktober 1955)

Der Arbeitsgang zur Prüfung auf unbekannte Gifte in Organen ist mühsam und langwierig. Es muß deshalb jeder Verbesserungsvorschlag dankbar begrüßt werden. Einen solchen stellt zweifellos das Verfahren von Feldstein u. Klendshoj[4] dar. Im folgenden soll das Verfahren in der Form beschrieben werden, wie wir es in der hiesigen Untersuchungsanstalt anwenden. Gleichzeitig soll über die Erfahrungen berichtet werden, die wir mit der Methode gemacht haben.

1. Zerkleinerung

Die Zerkleinerung nehmen Feldstein u. Klendshoj, wie heute wohl schon die meisten Laboratorien, im Elektromix vor. 500 g der Organe genügen für die gesamte Analyse. Sie werden nach Zugabe der gleichen Menge Wasser etwa 5 min lang zerkleinert.

2. Flüchtige Gifte

Die zerkleinerten 500 g werden in einen 2 l-Rundkolben übergeführt, der Elektromix wird mit etwa 200 ml Wasser nachgespült und dann werden nach Ansäuern mit Weinsäure insgesamt 500 ml mit Wasserdampf überdestilliert. In den ersten 20 ml wird auf Blausäure und Alkohol, im Rest auf die übrigen *flüchtigen Gifte (Chlorkohlenwasserstoffe, Phosphor, Phenole* usw.) geprüft. Zur Prüfung auf Chlorkohlenwasserstoffe hat sich die Reaktion von Fujiwara[5] bewährt, wobei 2 ml Destillat erst mit 1 ml Pyridin und dann mit 1 ml 50%iger Natronlauge kräftig geschüttelt und dann bei 70° C im Wasserbad erwärmt werden. Violettfärbung zeigt Chlorkohlenwasserstoffe an. Auf *DDT (Dichlordiphenyltrichloräthan)* kann außer im Wasserdampfdestillat nach N. Gandolfo[6] auch direkt geprüft werden. Man erhitzt 10 g der getrockneten und mit 20 g Talkum und 10 g Tierkohle vermischten Organe mit 200 ml 50%igem Alkohol $^3/_4$ Std am Rückflußkühler, filtriert warm und wäscht nochmals mit 10 ml 50%igem Alkohol nach. Nach dem Abdampfen des Alkohols wird die wäßrige Flüssigkeit mit Chloroform perkoliert. Der Abdampfrückstand gibt nach F. R. Bradbury, D. J. Higgins u. J. P. Stonemann[1] eine gelblichrote Färbung. *HCH (Hexachlorcyclohexanol)* ist im Acetonextrakt bereits am Geruch zu erkennen. Der Verdunstungsrückstand gibt die Beilsteinprobe. Beim Erhitzen mit alkoholischer KOH-Lösung sind Chlor-Ionen mit $AgNO_3$ nachweisbar.

3. Organische Gifte

Der Rückstand des Wasserdampfdestillats kann gleich für die Prüfung auf organische Gifte verwendet werden. Er ist durch die Wasserdampfbehandlung

bereits weitgehend aufgeschlossen und wird, noch heiß, durch ein Saftfilter filtriert. Das Ungelöste wird mit 500 ml kochendem Wasser nochmals aufgeschwemmt und wieder filtriert. Die vereinigten Filtrate werden in einem Perkolator mindestens 2 Std lang mit Chloroform extrahiert. Feldstein u. Klendshoj empfehlen dafür den Apparat von Hershberger u. Wolfe[7], den wir zum leichteren Einfüllen des Extraktionsgutes seitlich mit einem Einfülltrichter (siehe *a* in Abb. 1) versehen haben*. Das Chloroform im Perkolator wird nach 2 stündiger Extraktion unter Filtration abgelassen und zum restlichen Chloroform in den Destillierkolben gegeben. Nach Ablassen der wäßrigen sauren Lösung wird aus dem Destillierkolben das Chloroform bis auf etwa 50 ml in das Perkoliergefäß abdestilliert. Es kann gleich für die folgende Perkolation verwendet werden. Die im Kolben zurückbleibenden etwa 50 ml des Chloroformauszuges werden durch ein Filter in eine Kristallisierschale filtriert, der Kolben wird mehrmals mit wenig Chloroform nachgespült und das Chloroform auf dem Wasserbad verdunstet. Der Rückstand, der im Gegensatz zur Ausschüttlung mit Äther nach Stas-Otto verhältnismäßig rein ist, kann *Digitalis-Glucoside, Colchicin, Narcotin, Veratrin, Barbitursäuren, Phenacetin* usw. enthalten. Er wird mit den üblichen Reagentien (allgemeine Alkoloidreagentien usw.) geprüft.

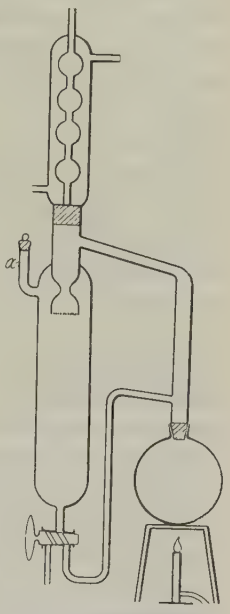


Abb. 1. Abgeänderter Perkolator nach Hershberger und Wolfe

Die wäßrige, saure Flüssigkeit wird wie beim Stas-Otto-Verfahren mit NaOH alkalisch gemacht und mit dem wie oben angegeben abdestillierten Chloroform wieder 2 Std perkoliert. Die Abtrennung des Chloroformauszuges erfolgt wie oben, ebenso das Überführen in eine 2. Kristallisierschale und das Abdunsten. Vor der Prüfung auf die hier möglicherweise vorhandenen Alkaloide wie *Strychnin, Codein, Atropin* usw. mit den bekannten Spezialreagentien, wird auch hier eine Vorprüfung mit den allgemeinen Alkaloidreagentien durchgeführt.

Schließlich wird die wäßrige alkalische Lösung wieder mit Salzsäure angesäuert, mit NH_3 ammoniakalisch gemacht und diesmal mit einer Lösung von 5 T. Chloroform und 1 T. Isopropanol wieder 2 Std im Perkolator extrahiert. Nach der gleichen Behandlung und Abtrennung wie oben wird hier auf *Morphin* geprüft.

Auf diese Weise können ohne Schwierigkeit innerhalb eines Tages ohne große manuelle Tätigkeit alle Gruppen getrennt und am anderen Tag identifiziert werden. Die Extrakte zeichnen sich durch große Reinheit aus, enthalten nur geringe Mengen von Fett und können meist ohne besondere Reinigung identifiziert werden.

Enthält der Rückstand der alkalischen Extraktion Verunreinigungen — insbesondere fetthaltige — so lösen wir den Kristallisationsrückstand mit warmer Salpetersäure (1 + 3), lassen erkalten, filtrieren, schütteln die Lösung mit $CHCl_3$ aus, lassen dieses ab und schütteln nun nach

* Der Apparat kann von der Firma Günther, Nürnberg, Humboldtstr. 39 bezogen werden.

Alkalisieren mit Natronlauge nochmals mit Chloroform aus. Nach dem Abdunsten des Chloroforms liegt der Rückstand (Strychnin usw.) in schönen Kristallen vor, die einwandfreie chemische Reaktionen und gute Chromatogramme ergeben.

Wir haben mit dieser Methode Gifte aus allen Gruppen nachgewiesen. So setzten wir z. B. zu den Innereien eines Schafes je ein flüchtiges Gift (Cyankalium), ein Gift der sauren Gruppe (Veronal), eines der alkalischen Gruppe (Strychnin) und eines der ammoniakalischen Gruppe (Morphin) zu und konnten nach der Trennung mit dieser Methode alle 4 Gifte wieder einwandfrei nachweisen.

Auch bei von uns vergifteten Tieren haben wir mehrere Analysen durchgeführt. So wurde Strychnin in einem vergifteten Hund einwandfrei wiedergefunden. Bei einem mit *α-Naphthylthioharnstoff* (*Antu*), mit der eben ausreichenden Menge vergifteten Meerschweinchen, das erst nach 3 Tagen zum Exitus kam, erhielten wir nach E. Bremanis u. K. G. Bergner[2] mit Brom und Natronlauge in Äther oder Chloroform im sauren Magen- und Darmextrakt eine sehr starke Reaktion, während im Extrakt von Lunge, Herz und Leber kein Antu nachgewiesen werden konnte.

Vorversuche zeigten, daß sich viele Extrakte zum papierchromatographischen Nachweis der Alkaloide eignen. So konnte nach der von Jatzkewitz[8] angewandten Arbeitsweise auf Schl. & Sch.-Papier 2043b im aufsteigenden Verfahren mit n-Butanol-Ameisensäure-Wasser (12:1:7) mit Dragendorffschem Reagens einwandfrei *Veratrin* neben *Codein* nachgewiesen werden, während die für diese Stoffe bekannten, üblichen Nachweisreaktionen hier versagten. Das papierchromatographische Verfahren zur Erkennung der Alkaloide muß allerdings noch weiter vervollkommnet werden, wenn auch durch die Arbeiten von Romeike[12] und Munier u. Macheboeuf[11] bereits gute Vorarbeit geleistet wurde.

Auf die heute zur Mode gewordenen *Vergiftungen mit Pflanzenschutzmitteln und Mitteln gegen tierische Schädlinge* wie *DDT*, *HCH*, *E 605* und andere *Phosphorsäurethioester* muß meist besonders geprüft werden. Antu fällt im sauren Chloroformauszug an, wie bereits erwähnt.

Bei Verdacht auf *E 605* (*Diäthyl-p-nitrophenylthiophosphorsäureester*), auch *Folidol*, *Parathion*, *Thiophos* genannt, und andere Phosphorsäureester wie *Ekatox*, *Mintacol* usw., prüft man am besten nach W. Schwerd u. G. Schmidt[14] im Mageninhalt.

Man dampft den Mageninhalt auf dem Wasserbad ein, reibt mit wasserfreiem Natriumsulfat trocken, extrahiert mit Benzol und befreit das Filtrat durch Abdestillieren vom Benzol. Der Rückstand wird mit alkoholischer 8%iger KOH-Lösung verseift (Gelbfärbung weist bereits auf E 605 hin), mit der doppelten Flüssigkeitsmenge an Wasser verdünnt, mit Schwefelsäure angesäuert, mit Äther ausgeschüttelt, das Wasser abgelassen und ein kleiner Teil der Ätherschicht mit $NaHCO_3$-Lösung geschüttelt. Gelbfärbung deutet E 605 an. Der Hauptteil der Ätherlösung wird abgedunstet, wie auch Kaiser[9] berichtet, mit Zink und Salz-

säure reduziert, die aromatische Aminogruppe diazotiert und mit N(1-Naphthyl)-äthylendiamin nach Bratton-Marshall zum Farbstoff gekuppelt.

Zu den relativ neueren Giftstoffen zählt auch das *Orthotrikresylphosphat* (OTK). Wenn auch OTK seit längerer Zeit in der Bundesrepublik als Weichmacher für Vinylpolymerisate verboten ist, so sei doch der Vollständigkeit halber an dieser Stelle sein Nachweis angeführt. Er beruht auf der durch Verseifung erzielten Spaltung des Esters in das Kresolgemisch und in Phosphorsäure.

Arbeitsweise. 5—10 g des gummiähnlichen Materials werden fein zerschnitten. bei flüssigem OTK-verdächtigem Material werden 50 g auf etwa 10 g eingedampft. Das so vorbereitete Material wird in einem Verseifungskolben mit 30 ml 90—96%igem Alkohol und 20 ml 30%iger NaOH- oder KOH-Lösung auf dem siedenden Wasserbad 3 Std lang verseift. Nach Abnahme des Kühlers wird der Alkohol durch Erhitzen entfernt und die gut gekühlte Verseifungsflüssigkeit durch Glaswolle filtriert, mit etwa 40 ml Schwefelsäure (1 + 3) angesäuert und nach dem Abkühlen in einem Scheidetrichter 2 mal mit je 25 ml Äther ausgeschüttelt.

Die vereinigten Ätherauszüge, die das Kresolgemisch enthalten, werden in einem Schälchen der freiwilligen Verdunstung überlassen und der Kresolrückstand nach Melzer auf o-Kresol untersucht. 1 ml der in Wasser gelösten Kresole wird mit 2 ml konz. Schwefelsäure und 2 Tr. Benzaldehyd versetzt. Beim Aufkochen tritt dunkelrote Färbung auf, bei höherem OTK- oder Phenolgehalt scheidet sich rotes Harz ab. Wird diese Lösung mit 10 ml Wasser verdünnt und mit KOH oder NaOH alkalisch gemacht, so färbt sich die Lösung intensiv rotviolett. Die Melzersche Reaktion ist charakteristisch nur für o-Kresol und Phenole[10].

In der ausgeätherten, schwefelsauren Lösung ist die Phosphorsäure enthalten, die nach den bekannten Methoden nachgewiesen wird. Bei positiver o-Kresolreaktion und positiver Phosphatreaktion kann mit Sicherheit das Vorhandensein von Orthotrikresylphosphat angenommen werden. Ob das OTK auch papierchromatographisch zu erfassen ist, werden weitere Versuche ergeben.

4. Anorganische Gifte

Auch für die Prüfung auf anorganische Gifte haben Feldstein u. Klendshoj eine Vereinfachung vorgeschlagen. Sie zerstören die organische Substanz nicht mit Kaliumchlorat und Salzsäure, sondern mit einem Gemisch von 1 T. 70%iger Perchlorsäure und 3 T. konz. Salpetersäure. Der große Vorteil dieses Verfahrens liegt darin, daß hier überhaupt keine Salzbildung erfolgt.

Freilich wird allseits vor der Verwendung von Perchlorsäure wegen ihrer großen Explosionsfähigkeit gewarnt. Feldstein u. Klendshoj weisen aber in einer persönlichen Mitteilung diese Bedenken bei genauer Einhaltung ihrer Methode zurück und arbeiten schon über 5 Jahre mit Erfolg damit. Besonders heben sie hervor, daß zugegebene Metallgifte ohne Verluste wiedergewonnen werden konnten. Auch wir hatten mit dieser Methode, die selbstverständlich unter dem Abzug durchzuführen ist, keinerlei Zwischenfälle.

Sie behandeln 100 g Organ in einem 3 l-Erlenmeyer-Kolben unter Bedecken mit einem Trichter 12 Std lang auf dem Wasserbad mit 200 ml rauchender

Salpeter- säure (D 1,4), filtrieren nach dem Erkalten das Fett über Glaswolle ab und destillieren die Salpetersäure nach Zusatz von 5 ml konz. Schwefelsäure in einer besonderen Schliffapparatur (siehe Abb. 2) bis zur beginnenden Verkohlung ab. Nun setzen sie tropfenweise eine Mischung von 3 T. Salpetersäure und 1 T. 70%iger Perchlorsäure zu, bis alles oxydiert ist und die Lösung farblos bzw. durch ausgeschiedene Salze weiß geworden ist. Dann erhitzen sie weiter bis zum Auftreten weißer SO_3-Dämpfe. Nach dem Erkalten setzen sie 10 ml Wasser zu, erhitzen nochmals bis zum Auftreten der weißen Dämpfe, verdünnen nun endgültig die klare, farblose Lösung mit Wasser und können — falls nötig nach Filtration — nun den Nachweis der Metallgifte vornehmen.

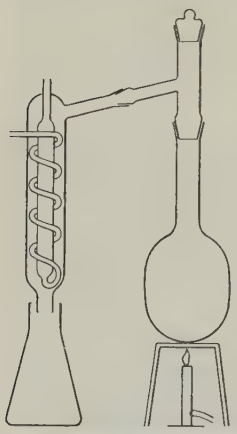


Abb. 2. Destillationsapparat

Natürlich werden bei dieser Methode Blei und Barium durch die zugesetzte Schwefelsäure ausgefällt. Es muß deshalb im Filtrationsrückstand eigens auf diese beiden Gifte geprüft werden. Das geschieht durch Auflösen des Bleisulfats mit ammoniakalischer Weinsäurelösung, und Fällen mit $K_2Cr_2O_7$ bzw. Aufschließen des Bariumsulfats mit Soda-Salpeter und Fällen der Salzsäurelösung mit Schwefelsäure.

Will man den Nachweis der Metallgifte papierchromatographisch auf Sch. & Sch.-Papier führen, so muß die Lösung völlig eingedampft und die Schwefelsäure abgeraucht werden, weil die vorhandene Schwefelsäure das Papier zersetzen würde. Ob man das Abrauchen der Schwefelsäure bei Verwendung der neuerdings von genannter Firma in den Handel gebrachten Polyvinylfolien umgehen kann, sollen weitere Versuche zeigen.

Die papierchromatographische Analyse verlangt wohl nur kleine Mengen von Metallgiften (10—50 μg), doch dürfen diese nicht in zu verdünnter Form (etwa 1%ig) vorliegen. Andernfalls muß vorher eingedampft werden oder man trägt wiederholt einen Tropfen auf die Startlinie auf, trocknet diesen und wiederholt das Auftropfen, bis man eine genügende Menge der Metallgiftlösung angereichert hat. Zur Kontrolle läßt man neben der Analysensubstanz auch alle anderen in Frage kommenden Metallgifte auf der Startlinie mitlaufen, um aus dem R_f-Wert und der Farbe der Flecken gleich auf das gesuchte Metallgift schließen zu können. Am einfachsten wählt man das aufsteigende Verfahren. Das Metallgift soll möglichst in Salzsäure gelöst sein. Als bewegliche Phase verwendet man n-Butanol, das mit 3 n Salzsäure gesättigt ist. Als Filtrierpapier hat sich Sch. & Sch.-Papier 2043 b gut bewährt. Es läuft schnell und gibt eine gute Trennung. Nach 6—8 Std ist die Trennung beendet. Man trocknet kurz im Trockenschrank und besprüht mit einer Lösung von Dithizon in Tetrachlorkohlenstoff, wobei sich Arsen mit orange, Antimon mit erdbeerroter, Zink, Zinn und Cadmium mit lila, Quecksilber und Thallium mit gelbroter und Kupfer mit stahlgrauer Farbe zu erkennen geben. Die einzelnen R_f-Werte sind bei Einhaltung obiger Verhältnisse: Sb 0,96; Tl 0,95; Hg 0,93; Sn 0,90; Cd 0,90; Zn 0,88; As 0,77; Cu 0,26; Pb null.

Andere Lösungsmittel ergeben natürlich andere R_f-Werte. Da die R_f-Werte einiger dieser Metalle, wie Sb, Sn, Hg, Zn und Tl nahe beieinander liegen und sich auch die Farben nicht gut voneinander unterscheiden lassen, müssen diese Metalle noch durch weitere Kunstgriffe differenziert werden. So kann man die Analysensubstanz mehrmals nebeneinander auf der Startlinie auftragen und das durch Aus-

einanderschneiden getrennte Chromatogramm mit verschiedenen Reagentien entwickeln. Zn und Cd z. B. geben mit o-Oxychinolin einen gelblichen Farbfleck, der unter der Quarzlampe wundervoll gelb fluoresciert. Thionalid gibt nur mit Tl einen gelben Farbfleck. Man wird also den einen Farbfleck der Analysensubstanz mit Dithizon, den andern mit Oxychinolin und den dritten z. B. mit Thionalid besprühen. Sehr schöne Färbungen entstehen mit anderen metallorganischen Reagentien, so bei Pb mit Benzidin, bei Hg und Cd mit Diphenylcarbazid, bei Sb mit Rhodamin und bei Ba mit Natriumrhodizonat.

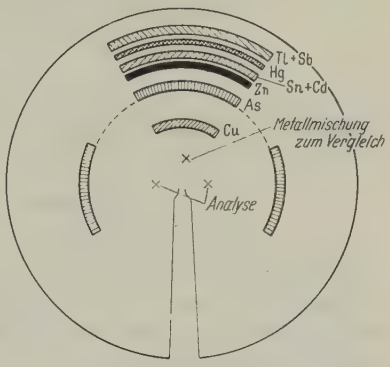


Abb. 3. Ringchromatogramm

Noch eleganter ist die Rundchromatographie nach Rutter[13], bei der die Analysensubstanz im Zentrum eines Rundfilters, der zwischen 2 gleich großen Petri-Schalen eingespannt ist, aufgetragen und die bewegliche Phase durch eine eingeschnittene Papierzunge aufgesogen wird. Zum Vergleich werden die anderen Metalle daneben in gleicher Entfernung vom Mittelpunkt des Rundfilters aufgetragen (Abb. 3) und mitlaufen gelassen. Das Entwickeln und Besprühen erfolgt wie oben. Man erhält die einzelnen Metalle in sehr schönen getrennten Farbringen und kann das gesuchte Metall an der Lage des Ringes durch Vergleichen mit den anderen Farbringen leicht erkennen.

Soll nur auf ein einziges, spezielles Metallgift geprüft werden, was ja eigentlich meist der Fall ist, so vereinfacht sich das Verfahren wesentlich. Da manche Metalle in Salzsäure schwer löslich sind (Pb, Tl) und daher bei obiger Arbeitsweise nur schwache Farbflecke ergeben, wird man zuweilen in anderen Säuren, bei Thallium z. B. in Schwefelsäure, lösen müssen. Diller u. Rex[3] nehmen in diesem Falle statt Salzsäure-n-Butanol als bewegliche Phase eine Mischung von Methanol — 25%iger Schwefelsäure — Wasser (7:1:4) und erhalten mit KJ-Lösung für Tl einen deutlich differenzierten R_f-Wert.

Literatur

[1] Bradbury, F. R., D. J. Higgins and J. P. Stonemann: J. Soc. chem. Ind. **66**, 65 (1947). — [2] Bremanis, E., u. K. G. Bergner: Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **89**, 115 (1950); vgl. diese Z. **134**, 290 (1951/52). — [3] Diller, H., u. O. Rex: diese Z. **137**, 241 (1952/53). — [4] Feldstein, M., and N. C. Klendshoj: Analyst (London) **78**, 43 (1953); vgl. diese Z. **146**, 319 (1955). — [5] Fujiwara, K.: Sitzungsber. naturforsch. Ges. Rostock **6**, 33 (1914); vgl. u. a. diese Z. **134**, 384 (1951/52). — [6] Gandolfo, N.: Rend. Ist. super. Sanità **14**, 65 (1951); vgl. diese Z. **137**, 75 (1952/53). — [7] Hershberger, E. B., and S. K. Wolfe: J. biol. Chemistry **133**, 669 (1940). — [8] Jatzkewitz, H.: Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **292**, 94 (1953); vgl. diese Z. **146**, 464 (1955). — [9] Kaiser, H.: Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **97**, 301 (1953). — [10] Martinius, J.: Pharmazie **4**, Heft 2 (1949). — [11] Munier, R., et M. Macheboeuf: Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **33**, 864 (1951); vgl. diese Z. **137**, 120 (1952/53). — [12] Romeike, A.: Pharmazie **7**, 496 (1952); vgl. diese Z. **140**, 288 (1953). — [13] Rutter, L.: Nature (London) **161**, 435 (1948); vgl. diese Z. **135**, 53 (1952). — [14] Schwerd, W., u. G. Schmidt: Dtsch. med. Wschr. **77**, 372 (1952).

Dr. H. Diller, Nürnberg, Wetzendorfer Straße 58

Darjeeling Government College, Darjeeling, India

Analytical Aspects of some Azo Dyes from Chromotropic Acid

Part I

SNADNS Dyes in the Detection and Volumetric Determination of Thorium

By

SACHINDRA KUMAR DATTA

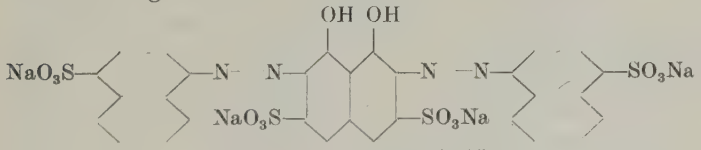
(Eingegangen am 8. November 1955)

Numerous organic compounds, the use of which has facilitated the solution of difficult analytical problems[24] have been prepared by various workers, in keeping with the fact that the analytical action of organic compounds always rests on the presence and steric arrangement of certain salt-forming and co-ordinatable groups[9]. A large number of dyestuffs also, having such groups, have found application in analytical chemistry. Some azo dyes produce characteristic colour changes with many metal ions, giving scope for their colorimetric determinations. Quantitative precipitations of metals are also often produced by some dyes and thus yielding suitable methods for the gravimetric estimation of those metals. Some dyes are even specific in their action. p-nitro benzene azo resorcinol is a suitable reagent for beryllium[16]; p-dimethyl amino azo phenyl arsonic acid[10, 13, 18] gives a coloured precipitate with zirconium which can be decomposed with ammonia and the yellow colour of the resulting solution measured colorimetrically. Titan yellow reacts with magnesium salts to yield a red colouration, which gives a method for the detection and determination of this metal[15]. Thorin [2-(2-hydroxy-3,6-disulpho-1-naphthyl-azo-)-benzene arsonic acid] is an important reagent for thorium and forms a coloured complex with this metal[2]. Azo derivatives of 8-hydroxy quinoline have figured prominently in the analytical field, their relative values as analytical reagents have been exhaustively reviewed by BOYD, DEGERING and SHREVE[4]. Two technically important dyes which have been found wide application as colorimetric reagents are Serichrome Blue R for chromium[20] and Benzo Fast Yellow 5 GL for copper[21].

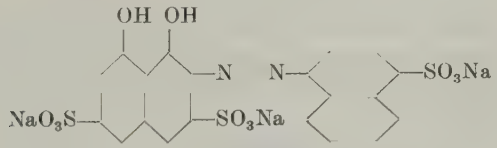
The present series deal with the use of some azo dyes, prepared from chromotropic acid, in the analytical field. This acid itself has been successfully used by KÖNIG[14] for the determination of chromium, with which it produces a red colouration; it also gives a green colouration with iron. ENDREDY and BRUGGER[7] found that this acid yielded brown

colouration with titanium in acid solution and was recommended by them for the colorimetric or spectrophotometric determination of this metal. Many azo dyes that are 'after chromed' on the fibre and used as mordants, as they form complexes with metals producing coloured lakes, have been derived from this acid[5, 11]. Kunzel (1890) prepared chromotrope 2 B by coupling diazotised p-nitraniline with chromotropic acid Banerjee prepared a red dye: 2-(p-sulphophenylazo)-1,8-dihydroxy naphthalene-3,6-disulphonic acid (SPADNS) by coupling diazotised sulphanilic acid with chromotropic acid and utilised this substance for the determination of thorium and zirconium by spectrophotometric and other methods[1].

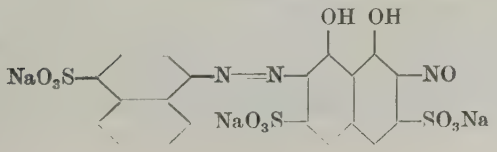
This paper describes the preparation of three dyes from chromotropic acid and naphthionic acid. Chromotropic acid in alkaline medium couples, as expected, with two molecular quantities of diazotised naphthionic acid producing a disazo dye, 2,7-di-(4-sulphonaphthylazo)-1,8-dihydroxy naphthalene-3,6-disulphonic acid (I), the colour of which is deep violet. But when the coupling of chromotropic acid was carried out with one molar quantity of diazotised naphthionic acid in glacial acetic acid medium, a mono azo brilliant red dye, 2-(4-sulphonaphthylazo)-1,8-dihydroxy naphthalene-3,6-disulphonic acid (SNADNS) was obtained (II). An orange coloured dye 2′-(4-sulphonaphthylazo)-1,8-dihydroxy-2-nitroso-naphthalene-3,6-disulphonic acid (III) was prepared from nitroso-chromotropic acid and diazotised naphthionic acid in hydrochloric acid medium. The dyes have been named as di-SNADNS, SNADNS and nitroso-SNADNS respectively, from their analogy with APANS[17, 22] and SPADNS[1]. The structures of these compounds may be represented by the following formulae:

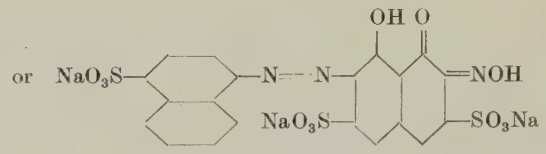


I di-SNADNS



II SNADNS





III Nitroso-SNADNS

Investigation of these dyes, for which there appears to have no reference in the literature, proved that they are true dyestuffs with interesting properties as such, but of even more interest because of their properties of forming coloured soluble complexes with thorium and zirconium. This property was sufficient to invoke much interests towards the study of their possible uses as analytical reagents. In addition to exploring the analytical uses of these dyes, the present paper also describes a simple method for the volumetric determination of thorium.

Experimental

Preparation of the Dyes

2-7-Di(4-sulphonaphthylazo)-1,8-dihydroxy naphthalene-3,6-disulphonic acid (di-SNADNS)

In a 500 ml beaker 2.2 molar quantities of 1,4-sodium naphthionate (B.D.H reagent grade) were dissolved in 200 ml. water. The solution was cooled in ice to 10° C and then was added to it with stirring a volume of conc. hydrochloric acid (sp. gr. 1.18, 4.5 molar quantity). The hydrochloride partially separated in the form of a thin white precipitate was kept cooled below 2° C and then to it was added a 80% solution of sodium nitrate (2 moles) in water, rapidly with constant agitation, the last few millilitres were added very carefully, till a starch iodide paper just turned blue.

The sodium salt of chromotropic acid (Mercks Reagent) (1 mole) was dissolved in water and then a 50% solution of NaOH (2.5 moles) was mixed with it. The solution was filtered and cooled to 2° C by adding crushed ice. With vigorous stirring the diazonium salt solution was added to it rather rapidly. The stirring was continued for 2 hours to ensure complete reaction, the temperature being maintained below 5° C all the time. The deep violet dye after neutralising with dilute hydrochloric acid to slight alkalinity, was heated nearly to boiling and then was stirred in an excess of sodium acetate to salt out the dye. It was filtered and dried. A dark violet powder was obtained. The estimation of nitrogen in the azo compound was done by first reducing it with alcoholic alkaline $Na_2S_2O_4$ solution. The concentrated mixture was then treated with conc. sulphuric acid and the digestion completed as in KJELDAHLS method in the usual way (found $N_2 = 6.10\%$, $C_{30}H_{17}O_{14}N_4S_4Na_4$ requires $N_2 = 6.39\%$.

2-(4-Sulphonaphthylazo)-1,8-dihydroxy naphthalene-3,6-disulphonic acid (SNADNS)

The method of preparation of this dye is the same, except that one molecular proportion of naphthionic acid (Na-salt) was taken and diazotisation was carried out in acetic acid medium. The diazonium acetate compound in glacial acetic acid solution cooled in ice below 5° C, was slowly added to the sodium salt of chromotropic acid (1 mole) dissolved in water, containing crushed ice, with constant

stirring. A deep red solution resulted, the dye was isolated as before (found N_2 = 4.13%, $C_{20}H_{11}O_{11}N_2S_3Na_3$ requires N_2 = 4.51%).

2'-(4-Sulphonaphthylazo)-1,8- dihydroxy-2-nitroso naphthalene-3,6-disulphonic acid (nitroso-SNADNS)

Diazo salt of naphthionic acid (1 mole) was prepared in hydrochloric acid as under the first dye. The sodium salt of chromotropic acid (1 mole) was dissolved in water and cooled to 2° C, to it was added 1 mole of $NaNO_2$ and conc. hydrochloric acid (2 moles). The mixture was stirred for ½ hour and then to it was added slowly and with stirring the well-cooled solution of diazonium salt. A deep orange coloured solution formed. The dye was similarly isolated (found N_2 = 6.13%, $C_{20}H_{10}O_{12}N_3S_3Na_3$ requires N_2 = 6.47%).

Properties of the Dyes

The dyes are stable to heat and light. SNADNS is stable to the action of acids, di-SNADNS becomes bright pink with acids and nitroso-SNADNS changes to yellow, while with ammonia the colour of both SNADNS and its nitroso-derivative change to brown but di-SNADNS does not show any colour change. On dilution largely, the violet colour of di-SNADNS changes to pink.

Reagents and Solutions

All solutions were prepared from reagent grade chemicals. A 0.026 M stock solution of thorium nitrate was prepared from Mercks thorium nitrate tetrahydrate (A.R.) and standardised gravimetrically by phenylacetic acid[6]. A solution of oxalic acid 0.04 M was also prepared as primary standard. Stock solutions of metals like copper, cadmium, bismuth, tin, barium, calcium, strontium, nickel, cobalt, manganese, chromium, magnesium, zinc, iron, titanium, zirconium, gold, cerium and lanthanum etc. were prepared. 0.05% aqueous solution of the dyes and 0.1% solution of sodium alizarine sulphonate were also prepared.

Qualitative Tests for Metals

To 2 ml. solution of the metal 0.5 ml. of 0,05% dye solution in water was added. Any colour change, if occurred either in the cold or in the hot was noted and recorded in Table 1 (p. 274). The metals which do not respond to the action of the dyes are not shown.

Analytical Possibilities of the Dyes

From Table 1 it is seen that all the dyes form coloured complexes with thorium and zirconium. SNADNS and nitroso-SNADNS react with nickel and cobalt in ammoniacal solution producing coloured complexes, cerium(ic) also gives coloured solutions with the two latter reagents. It remains to be seen if such colour systems obey Beers law, leading to methods for the colorimetric determination of these metals. The spectrophotometrical determinations of thorium and zirconium with these reagents are being studied. The dyes may be used as internal indicators in the volumetric titration of thorium by oxalic acid or in the complexometric titration with versene solution and also for the volumetric determination of fluorine with standard thorium nitrate solution.

Table 1. *Action of Dyes upon various Metal Ions*

Ions	Colours of the solution with SNADNS (red)	di-SNADNS (pink)	Nitroso-SNADNS (orange)
Cu^{II}	—	—	violet
Sn^{II} ($SnCl_2$). . . .	pale pink decolourised slowly		decolourised slowly
Fe^{III}	pale pink		brown
Ni^{II}	reddish-violet in ammoniacal solution	—	deep violet in ammoniacal solution
Co^{II}	violet in ammoniacal solution	—	violet in ammoniacal solution
Th^{IV}	bright pink	bluish-violet	reddish-pink
Zr^{IV}	pale pink	reddish-violet	red
Ce^{IV} (ceric nitrate)	pale pink	—	brown
Ce^{III} (cerous nitrate)	—	—	—
Ceric ammonium-sulphate	decolourisation	decolourisation	pale yellow
La^{III}	very pale pink	—	—
Au^{III}	pink, with slight turbidity	—	brown, with slight turbidity

Table 2. *Filter Paper Spot Test for Thorium*

Dye used	Spot of the dye alone	Spot with dye + test solution	Limiting sensitivity for identification of Th μg.
SNADNS. . . .	pale red spot with a yellowish ring at the rim	red spot, became pink with a surrounding bluish ring	4.5
di-SNADNS . .	pale pink spot with no coloured ring	pink spot, became blue-violet	3
Nitroso-SNADNS	pale yellow spot with a pale reddish ring at the rim	yellow spot, converted to pink with a bluish ring at the rim	2

Spot Test Analysis for Thorium

In order to test the sensitivities of the dyes for the identification of thorium by visual methods, spot tests were performed in micro test tubes or spot plate or by filter paper methods[8].

Procedure. One drop of the test solution of thorium at p_H 3, was placed in a micro test tube and treated with a drop of 0.05% solution of the dyes (Na-salt, at p_H 5) in water. A blank was set up at the same time for comparing the colours, it contained a drop of water in place of test solution. A positive result with the sample showed definite colour change. A spot plate may also be used similarly. The results revealed that up to 3.5, 2.5 and 2 μg. of thorium, were the limits of identification with SNADNS, di-SNADNS and nitroso-SNADNS respectively.

Spot Test on Filter Paper

Procedure. A drop of the dye solution (0.05%) was placed on a piece of filter paper (Whatman, chromatographic), with the help of a micro pipette, partially dried in air and then at the centre of the spot was placed a drop of the test thorium solution, and again partially dried in air, the results are noted below, in the tabular form (Table 2).

Use of Dyes in the Volumetric Determination of Thorium with Oxalic Acid

A direct volumetric procedure for the estimation of thorium with oxalic acid was developed by VENKATESWARLU and RAMNATHAN[23], in which Alizarin S was used as an internal indicator. Thorium was determined by GOOCH and KOBAYASHI[12] by an indirect volumetric method involving the precipitation of thorium as oxalate and subsequent titration of the latter with permanganate. Another method is to add the solution of thorium to be analysed to a known excess of oxalate and the remaining oxalate being titrated with a standard thorium nitrate[3]. Oxalic acid has been used by the present author for the titration of thorium solution using these dyes as indicators. The thorium complexes of these dyes are not very stable in high acid concentration, the suitable p_H range, over which the determination could be successfully carried out were also found out.

Procedure. Aliquot quantities of thorium nitrate solution were taken in 250 ml. Erlenmeyer flasks, the acidity was adjusted by adding 0.05 N hydrochloric acid to p_H 2.4 and the volume diluted to 25 ml. The solutions were heated to 50 ° C, as the reaction was complete in the hot, and then was added 0.5 ml. of the dye solution (0.05%). The colours of the solutions were pink, blue-violet and reddish-pink with

Table 3. *Titration of Thorium Solution with Oxalic Acid*

Th taken mg.	SNADNS oxalic acid (ml.)			di-SNADNS oxalic acid (ml.)		
	added	theo.	diff.	added	theo.	diff.
22.46	6.2	5.2	+ 1.0	6.1	5.2	+ 0.9
16.84	4.7	3.9	+ 0.8	4.5	3.9	+ 0.6
11.23	3.1	2.6	+ 0.5	3.0	2.6	+ 0.4
5.62	1.7	1.3	+ 0.4	1.4	1.3	+ 0.1
2.81	0.75	0.65	+ 0.10	0.72	0.65	+ 0.07
1.41	0.42	0.33	+ 0.09	0.39	0.33	+ 0.06
	Nitroso-SNADNS oxalic acid (ml.)			Alizarine red S oxalic acid (ml.)		
22.46	6.1	5.2	+ 0.9	6.2	5.2	+ 1.0
16.84	4.4	3.9	+ 0.5	4.4	3.9	+ 0.5
11.23	2.9	2.6	+ 0.3	2.8	2.6	+ 0.2
5.62	1.1	1.3	— 0.2	1.6	1.3	+ 0.3
2.81	0.60	0.65	— 0.05	0.73	0.65	+ 0.08
1.41	0.27	0.33	— 0.06	0.42	0.33	+ 0.09

Thorium nitrate = 0.026 M; Oxalic acid = 0.04 M.

SNADNS, di-SNADNS and nitroso-SNADNS, respectively. The solutions were then titrated with standard oxalic acid (0.04 M), run from a burette; micro-burette was used when necessary. Thorium oxalate was precipitated and at the end point the colour of the solutions changed from pink to red, blue-violet to pink and reddish-pink to yellow, containing SNADNS, di-SNADNS and nitroso-SNADNS indicators respectively. Titration using Alizarin-red was also carried out side by side to compare the results. Blank determinations were also done with all the dyes. The results which have been recorded in Table 3, indicate that with the increase in the bulk of the oxalate precipitate, the end point becomes more and more obscure, as a considerable amount of colour is absorbed by it. It was further observed that with nitroso-SNADNS, the end point was very sharp, as the change from pink to yellow can easily detected; the next effective dye was di-SNADNS.

Effect of Hydrogen Ion Concentration

As oxalic acid reacts with thorium in mineral acid medium and again as the thorium complexes of the dyes are unstable at high acid concentration, a suitable p_H range convenient to both, for the titration of thorium with oxalic acid, in presence of these dyes, had to be found out. Acidity of the thorium solution was carefully adjusted by adding very dilute hydrochloric acid, and the titrations were carried out as before, with the help of a micro-burette. The results entered in Table 4, show that p_H 2.2, 2.8 and 3 are most suitable for such titrations using SNADNS, di-SNADNS and nitroso-SNADNS, respectively.

Table 4. *Titration of Thorium at various* p_H*-Value*

p_H of the initial solution	Th found by (mg.)		
	SNADNS	di-SNADNS	Nitroso-SNADNS
2	2.5	2.58	1.60
2.2	3.0	2.69	2.31
2.4	3.25	3.08	2.59
2.6	3.26	3.09	2.68
2.8	3.25	3.02	2.68
3.0	3.32	3.26	3.01
3.2	3.10	3.16	3.15
3.4*	2.62	2.68	2.7

Th taken = 2.81 mg.

* The end point is indistinct at this p_H.

The spectrophotometric determinations of thorium and zirconium using these dyes are being studied and the results will be reported later.

The author is grateful to Dr. S. S. Guhasircar, Retired Professor of Chemistry, Ravenshaw College, Cuttack, for his kind advice. His sincerest thanks are also due to Prof. G. Banerjee, his colleague, for his kind suggestion and interest.

References

[1] Banerjee, G.: Z. analyt. Chem. **146**, 417 (1955); **147**, 105 (1955). — [2] Banks, Ch. V., and C. H. Byrd: Analyt. Chemistry **25**, 416 (1953); cf. Z. analyt. Chem. **144**.

227 (1955). — [3] Blaedel, W. J., and H. V. Malmstadt: Analyt. Chemistry **23**, 471 (1951); cf. Z. analyt. Chem. **135**, 194 (1952). — [4] Boyd, T., E. F. Degering and R. N. Shreve: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **10**, 606 (1938); cf. Z. analyt. Chem. **118**, 126 (1939/40). — [5] Cain and Thorpe: Synthetic Dye-stuff (1933). — [6] Datta, S. K., and G. Banerjee: Anal. chim. Acta **12**, 38 (1955); cf. Z. analyt. Chem. **149**, 159 (1956). — [7] Endredy, A., and F. Brugger: Z. anorg. allg. Chem. **249**, 263 (1942). — [8] Feigl, F.: Analyt. Chemistry **27**, 1315 (1955). — [9] Feigl, F.: Chemistry of Specific Selective and Sensitive Reactions, Academic Press, New York (1949). — [10] Feigl, F., P. Krumholz and E. Rajmann: Mikrochemie **9**, 395 (1931); cf. Z. analyt. Chem. **94**, 123 (1933). — [11] Gilman, H.: Organic Chemistry. Vol. III. (1953). — [12] Gooch, F. A., and M. Kobayashi: Amer. J. Sci. **45**, 227 (1918); cf. Z. analyt. Chem. **63**, 56 (1923). — [13] Hayes, W. G., and E. W. Jones: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **13**, 603 (1941). — [14] König, P.: Chemiker-Ztg. **35**, 277 (1911); cf. Z. analyt. Chem. **62**, 231 (1923). — [15] Kolthoff, I. M.: Biochem. Z. **185**, 344 (1927). — [16] Komarowsky, A. S., and N. S. Poluektoff: Mikrochemie **14**, 315 (1934); cf. Z. analyt. Chem. **102**, 281 (1935). — [17] Kuznecov, V. I.: C. A. **39**, 4561 (1945). — [18] Nazarenko, V.: Chem. J. Ser. B, J. appl. Chem. (U.S.S.R.) **10**, 1696 (1937). — [19] Ovenston, T.C.J., C. A. Parker and C. G. Hatchard: Anal. chim. Acta **6**, 7 (1952); cf. Z. analyt. Chem. **138**, 197 (1953). — [20] Spencer, G. C.: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **4**, 245 (1932). — [21] Stearns, E. I.: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **14**, 568 (1942). — [22] Thomason, P. F, M. A. Perry and W. M. Byerly: Analyt. Chemistry **21**, 1239 (1949); cf. Z. analyt. Chem. **132**, 124 (1951). — [23] Venkateswarlu, P., and A. Ramnathan: Current Sci. **21**, 45 (1952). — [24] Welcher, F. J.: Organic Analytical Reagents (1947/49).

Sachindra Kumar Datta, Chemical Laboratory, Darjeeling Government College, Darjeeling, India

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

II. Chemische Analyse anorganischer Stoffe

Sauerstoffsäuren des Phosphors (und Arsens). L. Gachon[1] überprüfte verschiedene *acidimetrische Methoden zur Bestimmung der (Ortho-)Phosphorsäure, die sich auf die Fällung als Ammoniumphosphomolybdat* gründen. Es ergab sich, daß die Methode von Maume, Dulac und Bouat[2] bei etwas modifizierter Arbeitsweise sehr genaue Werte liefert, wenn 1—20 mg P_2O_5 vorliegen und die Acidität der Lösungen in dem engen Bereich 4,0—4,7 n genau eingehalten wird. — *Arbeitsvorschrift. Reagentien.* 1. Mischsäure. 250 ml Salpetersäure (D 1,33) + 32 ml konz. Schwefelsäure werden mit Wasser auf 1000 ml aufgefüllt. — 2. Lorenz-Lösung. Zu einer Lösung von 250 g Ammoniummolybdat und 2,9 l Salpetersäure (D 1,33) in einem 5 l-Meßkolben läßt man die Lösung von 170 g Ammoniummolybdat in 1,5 l Wasser in dünnem Strahl unter Schütteln fließen und füllt dann auf 5 l auf. Nach zwei Tagen wird filtriert. — *Bestimmung.* Man versetzt 10 ml der zu bestimmenden Lösung in einem Erlenmeyer-Weithalskolben mit 10 ml Mischsäure, bringt eben zum Kochen, entfernt den Brenner, fügt unter Schwenken 20 ml Lorenz-Lösung in einem Guß zu

[1] Ann. Inst. nat. Rech. agronom., Sér. A **5**, 259—283 (1954).
[2] Ann. École nat. Agric. Montpellier **23**, 1 (1934).

und schwenkt nach Bedecken mit einem Uhrglas noch $^1/_2$ min um. Das Umschwenken wird nach einigen Minuten wiederholt. Am nächsten Tag bringt man dem Niederschlag auf ein Filter, wäscht 5—6 mal mit je einigen Millilitern Wasser, spült danach den oberen Teil des Filters mit einigen Tropfen Alkohol ab und überführt den Niederschlag in einen 100 ml-Destillierkolben. Man fügt 2—3 ml Natronlauge zu, destilliert das Ammoniak mit CO_2-freiem Wasserdampf (aus mit etwas CaO versetztem Wasser erzeugt) in vorgelegtes, mit Methylrot angefärbtes Wasser, titriert mit n/70 Salzsäure und zieht vom Ergebnis einen parallel festgestellten Blindwert ab. Milligramm P_2O_5 = 0,305 × verbrauchte Milliliter 1/70 n Salzsäure. — Kieselsäure stört nicht, dagegen stören große Konzentrationen organischer Substanz. Daher sollen citrathaltige Extrakte aus Böden nicht weiter als unbedingt nötig konzentriert werden.

M. Lederer[1] untersuchte die *Trennungsmöglichkeiten der Orthophosphat-Ionen von verschiedenen Kationen durch Papierchromatographie.* Es wurden die salzsauren Lösungen auf das Papier aufgebracht. Als Lösungsmittel diente mit n Salzsäure gesättigtes Butanol. Wenn Orthophosphorsäure neben Fe^{3+}, Cu^{2+} oder UO_2^{2+} (jeweils Mengen von etwa 10 mg/ml) zugegen ist, so ist ihr R_f-Wert der gleiche, wie wenn sie allein vorläge. Fe^{3+} hat einen R_f-Wert von 0,15, die Phosphorsäure befindet sich zum Schluß einige Zentimeter vor der Front des Eisens. Die Trennung ist also sehr gut. Auch unwägbare Mengen H_3PO_4 (in Form von radioaktiver $H_3{}^{32}PO_4$) lassen sich papierchromatographisch von Fe^{3+} und Ca^{2+} trennen. Im letzten Fall ist der R_f-Wert von H_3PO_4 derselbe wie in Abwesenheit von Metall-Ionen, im ersten Fall tritt eine kleine Verschiebung auf.

J.-P. Ebel u. Mitarb.[2] ergänzen ihre früheren kurzen Mitteilungen[3, 4] über die *papierchromatographische Trennung der Sauerstoffsäuren des Phosphors (und Arsens)*: 1. *Qualitative Trennung durch eindimensionale Chromatographie. — Arbeitsvorschrift.* Das Chromatographierpapier (Whatman Nr. 4) wird vorbehandelt, indem man es nacheinander mit verdünnter Salzsäure (1:4), Wasser (bis zur Chlorfreiheit), alkoholischer Oxinlösung, Alkohol und schließlich wieder mit Wasser wäscht. Man bringt in Abständen von mindestens 3 cm je einen Tropfen von ungefähr 0,02 ml, enthaltend 5—20 μg P, auf eine Linie, die etwa 2,5 cm vom Rand des Papiers entfernt ist. Nach Eintrocknenlassen bei Zimmertemperatur wird das zylinderförmig aufgerollte Papier in eine Kristallisationsschale aus Pyrexglas gestellt, die das Lösungsmittel enthält. Darüber wird eine Glasglocke gestülpt, deren Innenraum an Wasserdampf und den Dämpfen des Lösungsmittels gesättigt ist. Man arbeitet bei konstanter Temperatur (18° C). Die Glocke wird am Boden mit Vaseline abgedichtet. Man läßt die Lösungsfront insgesamt etwa 30 cm wandern (16—24 Std lang), sodann wird das Papier bei 70° C getrocknet. Entwickeln kann man nach Velluz und Pesez (vgl.[4].) oder nach C. S. Hanes und F. A. Isherwood[5] (Besprühen des Papiers mit einer wäßrigen Lösung, die je 100 ml 5 ml 60%ige Überchlorsäure 10 ml n Salzsäure und 25 ml 4%ige Ammoniummolybdatlösung enthält, 10 min

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **11**, 524—527 (1954). Inst. du Radium, Paris.

[2] Ebel, J.-P.: Bull. Soc. chim. France **20**, 991, 998, 1089, 1096 (1953); Volmar, Y., J.-P. Ebel et Y. Fawzi Bassili: Bull. Soc. chim. France **20**, 1085 (1953); Ebel, J.-P.: Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 679—700. Univ. Straßburg.

[3] Volmar, Y., J.-P. Ebel et F. B. Jacoub: C. R. Acad. Sci. (Paris) **235**, 372 (1952); vgl. diese Z. **140**, 287 (1953).

[4] Ebel, J.-P., et Y. Volmar: C. R. Acad. Sci. (Paris) **233**, 415 (1951); vgl. diese Z. **136**, 290 (1952).

[5] Nature (London) **164**, 1107 (1949); vgl. auch[4].

Aufhängen in einem Trockenschrank bei 85° C, Einbringen unter eine Glocke mit H_2S-Atmosphäre, wobei die Phosphat- usw. enthaltenden Flecke sich blau färben. 2 μg P sind gut nachzuweisen. Auf die Dauer wird auch der Untergrund des Chromatogramms bläulich.) — *Ergebnisse.* Aus den bereits früher veröffentlichten

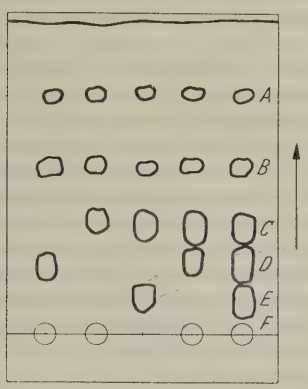


Abb. 1a

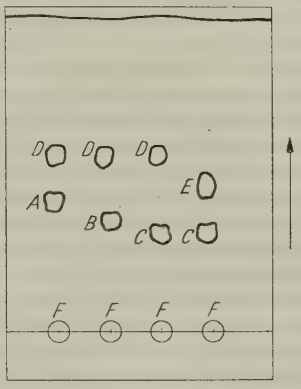


Abb. 1b

Abb. 1a und 1b. Trennung von Poly- und Metaphosphaten durch eindimensionale Chromatographie nach EBEL u. Mitarb. *A* Orthophosphat, *B* Pyrophosphat, *C* Tripolyphosphat, *D* Trimetaphosphat, *E* Tetrametaphosphat, *F* GRAHAMsches Salz. 1a. Trennung mit saurem Lösungsmittel (siehe[1]) 1b. Trennung mit alkalischem Lösungsmittel (siehe[1])

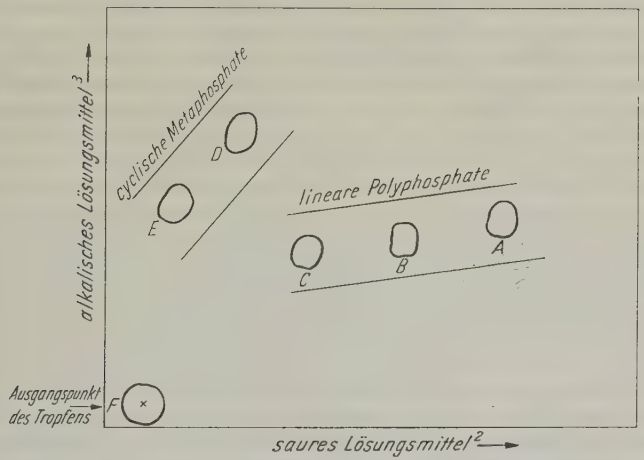


Abb. 2. Trennung von Poly- und Metaphosphaten durch zweidimensionale Chromatographie nach EBEL u. Mitarb. (Bezeichnungen wie in Abb. 1a und 1b)

R_f-Werten[1] geht hervor, daß mit saurem Lösungsmittel[1] Hypophosphit, Phosphit, Pyrophosphit und Orthophosphat voneinander nicht getrennt werden können, sie sind nur gemeinsam von Hypophosphat oder Pyrophosphat zu trennen. Die Trennung Arsenit-Arenat gelingt glatt. Mit alkalischem Lösungsmittel[1] können die

[1] VOLMAR, Y., J.-P., EBEL et F. B. JACOUB: C. R. Acad. Sci. (Paris) **235**, 372 (1952); vgl. diese Z. **140**, 287 (1953).

5 Anionen Hypophosphat, Phosphit, Pyrophosphit, Orthophosphat und Hypophosphat gut voneinander getrennt werden. Die Trennung Arsenit-Arsenat ist dagegen nicht durchführbar. Über die Trennungsmöglichkeiten in der Gruppe der Poly- und Metaphosphate orientieren die Abbildungen 1a und 1b. Man erkennt, daß mit saurem Lösungsmittel wenigstens je 4 Säuren voneinander getrennt werden können, mit alkalischem Lösungsmittel sind nur Gruppen von drei Säuren trennbar.

2. *Qualitative Trennung durch zweidimensionale Chromatographie.* Wenn eine vollständige Identifizierung der Komponenten eines Gemischs durch eindimensionale Chromatographie nicht möglich ist, arbeitet man folgendermaßen: Man läßt zuerst mit einem alkalischen Lösungsmittel wandern, wie oben beschrieben, trocknet bei Zimmertemperatur (Gefahr der Hydrolyse!), dreht das Papier um 90°, läßt jetzt mit einem sauren Lösungsmittel wandern, trocknet und entwickelt wie bei der eindimensionalen Chromatographie. Als Beispiel für die Ergebnisse von Trennungen durch die zweidimensionale Chromatographie ist in Abb. 2 die Trennung der Poly- und Metaphosphate veranschaulicht. Man erkennt zwei Gruppen der Phosphate, die Gruppe der linearen Polyphosphate (Pyro-, Triphosphat und Grahamsches Salz) und die der cyclischen Metaphosphate (Trimeta- und Tetrametaphosphat). Als dritte Gruppe kommt die hier nicht eingezeichnete Gruppe der Säuren mit 1 P-Atom (Hypophosphit, Phosphit, Orthophasphat) hinzu.

3. *Quantitative Bestimmung. — Arbeitsvorschrift.* Mit einer auf 0,005 ml genauen Mikropipette werden 0,02 bis höchstens 0,03 ml auf das Papier aufgebracht, wenn nötig mehrmals hintereinander, wobei man jeweils zwischendurch an der Luft trocknen läßt. Von jeder Komponente dürfen nicht mehr als 20 μg P vorhanden sein. Die chromatographische Trennung und Entwicklung erfolgt wie oben beschrieben. Dann schneidet man Bereiche von 9—16 cm^2 um jeden Fleck aus, bringt jeden in einen Kjeldahl-Mikro-Kolben, erhitzt mit einer Mischung von 1 ml 60%iger Überchlorsäure und 2 Tropfen Wasserstoffperoxyd oder konz. Salpetersäure. Wenn die Lösung nach $^1/_2$stündigem Erhitzen auf sehr kleiner Flamme noch braun ist, fügt man noch einige Tropfen Wasserstoffperoxyd oder Salpetersäure zu und erhitzt noch einmal ebenso. Nach dem Abkühlen fügt man einige Milliliter Wasser zu, erhitzt $^1/_2$ Std auf dem siedenden Wasserbad, um allen Phosphor in Orthophosphat überzuführen, spült den Inhalt des Kolbens mit einigen Millilitern Wasser über und bestimmt das Phosphat colorimetrisch als Molybdänblau nach der Methode von I. Berenblum und E. Chain[1]. Eine Blindbestimmung des Phosphorgehalts des angewandten Papiers wird in gleicher Weise (Ausschneiden eines Stücks des Chromatogramms außerhalb der blauen Flecken) vorgenommen und bei der Bestimmung berücksichtigt (etwa 0,05 μg/cm^2). Zu den erhaltenen Ergebnissen fügt man, außer im Falle des Graham-Salzes, jeweils 5% zu. Die Fehlergrenze wurde bei Anwendung der eindimensionalen Chromatographie (mit sauren wie alkalischen Lösungsmitteln) zu 2—3% ermittelt, kann aber auch größer sein. Bei der zweidimensionalen Chromatographie ist der Fehler entsprechend höher. — *Anwendungen.* Mit Hilfe der papierchromatographischen Methode wurde in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Forscher die Nichtexistenz von Mono- und Dimetaphosphaten bewiesen, dagegen die Existenz von Tetraphosphat und von Trimetaphosphat als Hydrolyseprodukt des Grahamschen Salzes sichergestellt. Über den Nachweis von Polyphosphaten mittlerer Kettenlänge vgl. auch[2].

[1] Biochemic. J. **32**, 286 (1938); vgl. diese Z. **124**, 60 (1942); **132**, 450 (1951); **134**, 148 (1951/52); **135**, 318 (1952).

[2] Dewald, W., u. H. Schmidt: Z. anorg. allg. Chem. **272**, 253 (1953); vgl. diese Z. **140**, 311 (1953).

H. Grunze und E. Thilo[1] machen es möglich, neben den Metaphosphaten, Mono-(Ortho-), Di(Pyro-), Tri(poly-) und Tetraphosphat auch die Poly- (genauer gesagt Oligo-)phosphate Penta- bis Oktophosphat, deren Isolierung bisher nicht gelungen war, als chemische Individuen analytisch nachzuweisen. — Als Papiersorte schlagen die Verff. Nr. 2040a von Sch. & Sch. vor, das von den Herstellern gebrauchsfertig, d. h. schon vorgewaschen, geliefert wird. Das Chromatographierpapier wird in Form rechteckiger Streifen, 30 × 12,5 cm, benutzt bei Anwendung ammoniakalischer Lösungsmittel, ebenso bei Anwendung saurer, wenn keine mittleren Polyphosphate (Tetra- bis Oktophosphat) vorhanden sind, wobei man bis zu 8 Substanzproben auf der 12,5 cm langen Startlinie auftragen kann. Andernfalls wird zwecks Erhöhung des Trenneffekts der untere Teil des Papiers zugespitzt. Die Startlinie für die Untersuchungssubstanz befindet sich in 3—5 cm Entfernung vom unteren, 2 mm tief in die Chromatographierlösung eintauchenden Ende des Papiers. Bei Anwendung eines zugespitzten Chromatogramms liegt die Startlinie noch im zugespitzten Teil. Die Konzentration der zu untersuchenden Phosphatgemische soll 10—20 mg Substanz/Milliliter betragen. — *Lösungsmittel. Saure*: I. Vgl. [2]. II. 70 ml Isopropanol, 10 ml Wasser, 20 ml Trichloressigsäurelösung (20%ig), 0,3 ml Ammoniaklösung (25%ig); *ammoniakalische*: III. Vgl[3]. IV. Vgl[2]. Die vorbereiteten Papiere werden sofort nach Einbringen in das Glasgefäß chromatographiert und nicht erst längere Zeit der Einwirkung der Lösungsmitteldämpfe überlassen. Die Laufzeit beträgt etwa 15 Std. Nach Herausnehmen werden die Chromatogramme an der Luft getrocknet und hierauf kurz im Trockenschrank auf 60° C erhitzt. Die anschließende Sichtbarmachung der Phosphatflecken erfolgt nach der etwas abgeänderten Methode von Hanes und Isherwood. Das Monophosphat wird bereits beim Besprühen mit dem Molybdatreagens als gelbes Molybdophosphat sichtbar, alle anderen Phosphate erst nach geraumer Zeit. Nach der Reduktion mit H_2S erscheint der Monophosphatfleck grünlich, die andern rein blau. Das macht es besonders leicht, die Positionen der übrigen Phosphate in Relation zur Lage des Monophosphats anzugeben: Der P_k-Wert, der ebensogut wie der R_f-Wert die Position der einzelnen Phosphate charakterisiert, ist durch die Formel:

$$P_k = \frac{\text{Von der Verbindung zurückgelegter Weg}}{\text{Vom Monophosphat zurückgelegter Weg}} \cdot 100$$

definiert. — R_f- und P_k-Werte sind abhängig von Temperaturänderungen und Änderungen in der Zusammensetzung des Lösungsmittels (nie mehr als einmal benützen!), ferner geringfügig von der Lage der Startlinie, der Form des Papierstreifens und von der Gegenwart von Phosphaten mit benachbarten R_f-Werten. Die Lage der (geradkettigen) Polyphosphate wird durch die Formel:
$\log P_k = -a \cdot n + b$ (n = Zahl der P-Atome im Polyphosphat, a und b charakteristische Lösungsmittelkonstanten) angezeigt.

Einige Ergebnisse sind in Tab. 1 (S. 282) zusammengestellt. Man sieht, daß Lösungsmittel I die besten Trenneffekte bei der Trennung der niedermolekularen Meta- und Polyphosphate (bis zum tetrameren) ergibt, II eignet sich auch zur Trennung höher kondensierter Polyphosphate. Bei Abwesenheit höher kondensierter

[1] S.-B. dtsch. Akad. Wiss. Berlin, math.-naturwiss. Kl. 1. Aufl. **1953**, Nr. 5, 3—25; 2. Aufl. **1955**, Nr. 5, 3—28.

[2] Volmar, Y., J.-P. Ebel et F. B. Jacoub: C. R. Acad. Sci. (Paris) **235**, 372 (1952); vgl. diese Z. **140**, 287 (1953).

[3] Ebel, J.-P., et Y. Volmar: C. R. Acad. Sci. (Paris) **233**, 415 (1951); vgl. diese Z. **136**, 290 (1952).

Tabelle 1. *P_k-Werte der Phosphate nach* H. GRUNZE *und* E. THILO

Anion		p_k-Werte mit den Lösungsmitteln			
		I	II	III	IV
Monophosphat	PO_4^{3-}	100	100	100	100
Di ,,	$P_2O_7^{4-}$	63,8	72,6	73	76
Tri ,,	$P_3O_{10}^{5-}$	42,0	53,4		
Tetra ,,	$P_4O_{13}^{6-}$	24,6	39,7	(61)	(63)
Penta ,,	$P_5O_{16}^{7-}$	15,9	30,1	—	—
Hexa ,,	$P_6O_{19}^{8-}$	10,1	21,9	0	0
Hepta ,,	$P_7O_{22}^{9-}$	5,8	15,1		
Okto ,,	$P_8O_{25}^{10-}$	—	11,0		
Trimeta ,,	$P_3O_9^{3-}$	29,0	43,8	160	156
Tetrameta ,,	$P_4O_{12}^{4-}$	11,6	24,6	121	122

Polyphosphate können mit I und II auch die (ringförmigen) Metaphosphate nachgewiesen werden, bei Gegenwart solcher werden die Metaphosphate sicherer mit III und IV erkannt, jedoch ist hier die Trennung der Polyphosphate schwieriger und nur bis zum Tetraphosphat möglich.

Die *quantitative Bestimmung der Phosphate* gestaltet sich nach W. WIEKER[1] wie folgt: Es werden zugespitzte 13 cm breite, 30 cm lange Papierstreifen verwendet. Mit Hilfe einer 0,02 ml fassenden, in 0,0002 ml unterteilten Mikropipette wird auf dem Startpunkt eine Lösungsmenge, enthaltend 20—50 μg P, aufgebracht. Nach der üblichen Laufzeit und Entwicklung werden die einzelnen Flecke mit Bleistift rechteckig umrandet und ausgeschnitten, zur Extraktion je in einem 20 ml Kjeldahl-Kolben mit 5 ml 0,1 n NH_3-Lösung übergossen; nach 1½ stündigem Stehen wird die anfallende Lösung mit verdünnter Überchlorsäure gegen p-Nitrophenol neutralisiert, dann werden 0,1 ml 70%ige Überchlorsäure zugegeben; nach 1½ stündigem Stehen auf dem siedenden Wasserbad wird mit 4,5 n Natronlauge wieder gegen p-Nitrophenol neutralisiert (Natronlauge darf nicht in Glas-, sondern muß in Vinidur- oder Silbergefäßen aufbewahrt werden!). Das Volum der so bereiteten Lösung soll 8 ml nicht überschreiten. Dann werden in einen 20 ml-Scheidetrichter nacheinander gegeben: 0,06 ml 10 n Schwefelsäure, 0,25 ml 5%ige Ammoniummolybdatlösung, die zu colorimetrierende Lösung, 5 ml dest. Isobutanol. Nach kräftigem Durchschütteln und Abtrennen der wäßrigen Schicht wird die isobutanolische Schicht mit 1 ml 1n Schwefelsäure gewaschen und mit 1,5 ml $SnCl_2$-Lösung versetzt (täglich frisch hergestellt aus 0,25 ml Stammlösung + 25 ml 1n Schwefelsäure; Stammlösung: 10 g $SnCl_2$ + 25 ml konz. Salzsäure). Nach 5minutigem Schütteln und anschließendem Verwerfen der farblosen wäßrigen Schicht wird die isobutanolische Lösung in einen 10 ml-Meßkolben übergeführt und mit Isobutanol zur Marke aufgefüllt. Die photometrische Bestimmung erfolgt in 10 mm-Küvetten unter Anwendung von Rotfiltern (600—2800 mμ). Es ist täglich eine Eichung mit KH_2PO_4-Lösung bekannten P-Gehalts durchzuführen, dagegen erübrigt sich eine Blindbestimmung, wenn im Papier $< 0{,}01$ μg P/cm² vorliegen. Wenn mehr als 10 μg P in einem Fleck vorliegen, ist von der ammoniakalischen Extraktionslösung eine Aliquote anzuwenden. – Aus einer Beleganalyse ergibt sich ein maximaler relativer Fehler von 3%.

[1] S.-B. dtsch. Akad. Wiss. Berlin, math.-naturwiss. Kl. 2. Aufl. **1955**, Nr. 5, 3–28.

A. E. R. Westman, A. E. Scott und J. T. Pedley[1] sowie J. Crowther[2] wenden die *Methode der absteigenden Chromatographie*[3,4] *zur Trennung und Bestimmung der verschiedenen Phosphat-Anionen nebeneinander* an. — *Der Apparat* besteht aus einem gut isolierten Kasten, der mehrere Glastanks mit den Innenmaßen 30,5 × 18 × 46 cm enthält mit je einer für die Art dieses Arbeitens üblichen Stand- und Durchlaufanordnung. Jeder Tank wird mit einer durchlochten Glasplatte bedeckt und gut abgedichtet. Durch das Loch der Deckplatte, das normalerweise mit einem Objektträger verschlossen wird, kann das Lösungsmittel in das Durchlaufgefäß gefüllt werden. An jedem Ende des Durchlaufgefäßes (vgl. Abb. 3) sind Glasstützen angebracht; an der oberen befindet sich eine Anordnung von 3 zylindrischen Stäben, die von 2 Polythenreifen ($1^1/_4$ cm breit) so zusammengehalten wird, daß ein Streifen vom dicksten verwendeten Filterpapier gerade durchgeschoben werden kann. Am Ende der unteren Glasstütze und etwa $2^1/_2$ cm von der Wand des Tanks entfernt sitzt ein sogenannter Sperrstab. Das Chromatogramm wird durch die 3 Stab-Anordnung und über den Sperrstab gezogen, wodurch ein Aushebern der Flüssigkeit aus dem Durchlaufgefäß durch Anliegen des Papiers an die Gefäßwand vermieden und das Papier von der Mitte des Tanks weggehalten wird, so daß bei Anwendung von 2 Phasen-Systemen Bechergläser oder eine magnetische Gleichgewichtsvorrichtung nach Hanes und Isherwood[4] aufgestellt werden können. In jedem Tank taucht an 2 gegenüberliegenden Seiten in eine Menge Lösungsmittel auf dem Boden je ein Filterpapierstreifen ein, wodurch die Sättigung des Tanks mit Lösungsmitteldampf beschleunigt wird. — *Papier.* Westman u. Mitarb. verwenden vor allem Whatman Papier Nr. 1, das sie durch mehrtägiges Waschen mit Essigsäure und gründliches Nachwaschen mit dest. Wasser bis zur völligen Acetatfreiheit vorbehandeln. Crowther zieht Sch. & Sch.-Papier Nr. 589 vor, das er nicht vorbehandelt, und zwar Schwarzband (erlaubt rasche Trennung der Phosphate, jedoch besteht die Gefahr des Überladens und der Schwanzbildung) und Orangeband (erfordert langsameres Arbeiten, ist aber sonst vorzuziehen). Am unteren Ende der Chromatogramme werden mit Polythenklammern Filterpapierpolster befestigt, um einen beständigen Durchfluß zu erreichen. — *Lösungsmittel.* Die angewandten Lösungsmittelgemische gehen aus Tab. 2 (S. 284) u. Tab. 3 (S. 285) hervor. — *Arbeitsvorschrift.* Auf der Startlinie, die etwas unterhalb des Durchflußgefäßes parallel zu ihm verläuft und etwa 35,5 cm vom unteren Rand des Chromatogramms entfernt ist, werden die zu untersuchenden Phosphatlösungen aufgebracht (maximal 0,003 ml einer Phosphatlösung

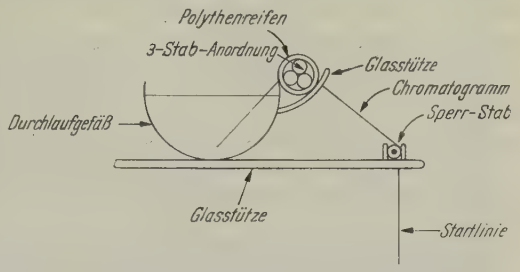


Abb. 3 Apparat zur Chromatographie von Phosphorsäure nach Westman u. Mitarb.

[1] Nature, (London) **168**, 740 (1951); Analyt. Chemistry **24**, 1231 (1952); Chemistry in Canada **4**, 189 (1952).

[2] Nature (London) **173**, 486 (1954); Analyt. Chemistry **26**, 1383—1386 (1954). Ontario Res. Foundation, Toronto (Canada).

[3] Consden, R., A. H. Gordon und A. J. P. Martin: Biochemic J. **38**, 224 (1944); vgl. diese Z. **130**, 296 (1949/50).

[4] Hanes, C. S., und F. A. Isherwood: Nature (London) **164**, 1107 (1949); vgl. auch S. 278, Fußnoten [4].

[0,03—0,09 m an P[1]] bzw. 60—90 μg P in Form einer an P 0,25 m Lösung[2]). Nach dem Eintrocknen an der Luft setzt man das Chromatogramm ein, füllt das Durchflußgefäß mit Lösungsmittel und läßt 16—18 Std bei Raumtemperatur laufen. — Das *Entwickeln der Chromatogramme* geschieht nach HANES und ISHERWOOD durch Überführen in Molybdänblau, wobei die Reduktion für qualitative Analysen durch Besprühen mit $SnCl_2$-Lösung erfolgen kann. Die Phosphatbanden werden dabei schnell sichtbar, verschwinden, aber nach $^1/_2$ Std wieder unter einer schnell sich verstärkenden Untergrundbläuung[1]. Für quantitative Zwecke reduziert man wie üblich durch Einhängen der Chromatogramme in eine H_2S-Atmosphäre[1] oder durch Bestrahlen mit UV-Licht[2]. — *Quantitative Bestimmung.* Die Phosphatflecke werden sorgfältig ausgeschnitten und durch mindestens 1stündiges Eintauchen in 25,00 ml 0,1 n NH_3-Lösung in Lösung gebracht. 20 ml der Lösung (wenn mehr als 50 μg P zu erwarten sind, 10,00 ml) werden zwecks Hydrolyse mit 5 ml 10 n Schwefelsäure 30 min auf 100° C erhitzt, abgekühlt, mit 1 ml 12,5%iger Ammoniummolybdatlösung und nach dem Durchschütteln mit 1 ml 6%iger Hydrazinhydrochloridlösung versetzt; dann füllt man auf 50,00 ml auf, stellt genau 10 min in ein Bad von 100° C, kühlt schnell in einem kalten Wasserbad ab und mißt die Absorption bei 830 mμ gegen Wasser. Der P-Gehalt wird aus einer Eichkurve abgelesen. In entsprechender Weise werden Blindbestimmungen durchgeführt. Nach WESTMAN darf der Blindwert 0,03 μg je Quadratzentimeter Filterpapier nicht überschreiten, andernfalls war die Vorbehandlung des Papiers ungenügend. Die Genauigkeit beträgt etwa 0,8—2%[2]. — Die *Wahl der* je nach dem speziellen Problem vorzuziehenden *Versuchsbedingungen* ist aus den Angaben der Tab. 2 u. 3 zu treffen.

Tabelle 2. *Durchschnittswerte der Positionskonstanten*

$$R_0 = \frac{R_f \text{ des zu identifizierenden Phosphats}}{R_f \text{ von Orthophosphat}}$$

bei 23° C nach WESTMAN

Lösungsmittel	R_0					
	Ortho	Pyro	Tri	Tetra	Trimeta	Tetrameta
1. Saure:						
a) Tert.-Amylalkohol-Wasser-Ameisensäure (90:90:30) . . .	1	0,33	0,14	—	0,14	0,08
b) Tert.-Butylalkohol-Wasser-Pikrinsäure (80 ml:20 ml:2 g) .	1	0,56	0,27	—	← sehr niedrig →	← sehr niedrig →
c) Tert.-Butylalkohol-Wasser-p-Toluolsulfonsäure (80 ml:20 ml:2 g)	1	0,51	0,43	0,35		
d) Isopropylalkohol-Wasser(80:20) p-Toluolsulfonsäure (auf p_H 1,5)	1	0,57	0,30	—		
2. Basische						
a) n-Propanol-Wasser-NH_3-Lösung (D 0,90) (60:10:20) . . .	1	0,49	0,37	0,26	0,60	0,89
b) n-Propanol-Wasser-NH_3-Lösung (D 0,90) (60:20:20)	1	0,65	0,62	0,54	0,87	1,13
c) Pyridin-Wasser-NH_3-Lösung (D 0,90) (65:30:5)	1	0,36	0,32	0,29	0,74	1,55
d) Pyridin-Wasser-NH_3-Lösung (D 0,90) (65:50:5)	1	0,73	0,70	0,67	> 1	> 1

[1] Vgl. Fußnote [1], S. 283.
[2] Vgl. Fußnote [2], S. 283.

WESTMAN gelang es, auf chromatographischem Weg das Tetraphosphat als chemisches Individuum nachzuweisen, CROWTHER erreichte das gleiche für die höheren Polyphosphate bis zum Kondensationsgrad 9. In beiden Fällen geschah dies unabhängig von den Arbeiten von EBEL u. Mitarb. sowie GRUNZE und THILO (vgl. vorstehende Referate).

Tabelle 3. *Chromatographische Trennungen nach* CROWTHER

Vorschrift	Mögliche Phosph.-s.-komponenten [a])	Filterpapier	Lösungsmittel	Laufzeit in Std.	Bemerkungen
1[b])	Ortho, Pyro, Tri, HK[c]	Sch. & Sch., 589, Orangeband	Tert.-Butylalkohol-Wasser-Ameisensäure (80:20:5)	30	sehr klare Banden
2[b])	Ortho, Pyro, Tri, Trimeta, Tetra, Tetrameta, HK[c]	Sch. & Sch., 589, Schwarzband	Tert.-Butylalkohol-Wasser-Ameisensäure (80:20:5)	30—40	sehr klare Banden, aber Gefahr des Überladens
3	Ortho, Pyro, Tri, Trimeta, Tetra, Tetrameta, Penta, Hexa, HK[c]	Sch. & Sch., 589, Orangeband	Isopropylalkohol-Wasser-Ameisensäure (80:20:5)	48	Banden, durch schwache Schwänze verbunden
4[d])	Pyro, Polyphosphate der Kondensationsgrade 3—9, HK[c]	Sch. & Sch., 589, Schwarzband	(α) Tert.-Butylalkohol-Wasser-Ameisensäure (80:20:5)	16	Banden, die durch schwache Schwänze verbunden sind
			(β) n-Propanol-Wasser-konz. NH_3-Lösung (60:20:20)	48	

[a]) Geordnet nach ihrer Reihenfolge auf dem Chromatogramm, zuerst das dem unteren Ende der Chromatogramms nächste; nur die angeführten Phosphate können jeweils bestimmt werden.

[b]) Bei sorgfältigen Arbeiten zeigen die Chromatogramme scharf begrenzte Phosphatbanden ohne Untergrund.

[c]) HK: Höher kondensiertes Phosphat (unter den gegebenen Bedingungen auf oder nahe dem Startpunkt verbleibend), also z. B. im Fall 2 alle Phosphate mit höherem Kondensationsgrad als 4, im Fall 4 alle mit höheren Kondensationsgrad als 9.

[d]) Im alkalischen Lösungsmittel werden Pyro- und Triphosphat nicht voneinander getrennt. Daher wird eine solche Mischung nacheinander mit 2 Lösungsmitteln chromatographiert. Zuerst wird mit saurem Lösungsmittel Pyro- und Triphosphat getrennt, dann wird das Chromatogramm entfernt, getrocknet und sodann das ammoniakalische Lösungsmittel angewandt. Da Pyro- und Triphosphat in diesem Lösungsmittel die gleichen R_f-Werte haben, bleiben sie getrennt. — Wenn Ortho-, Trimeta- und Tetrametaphosphat zugegen sind, laufen sie zum Schluß aus dem Chromatogramm hinaus. Das kann vermieden werden, wenn man längere Chromatogramme verwendet oder die Laufzeit herabsetzt (dadurch leidet die Trennschärfe) oder Vorschrift 2 und 4 kombiniert.

B. Sansoni und R. Klement[1] wenden mit Erfolg die *Methode der kontinuierlichen Papierelektrophorese* nach W. Grassmann und K. Hannig[2] an, um *quantitative Trennungen bei der Analyse von Gemischen kondensierter Phosphate* durchzuführen[3]. (Gerät: Elphor Va, ausgenutzte Trennfläche: 48 × 32 cm, 42 Auffanggläschen). Nach dieser Methode überlagert sich die vertikale Komponente der Wanderungsgeschwindigkeit (unter dem Einfluß der Schwerkraft) mit der horizontalen (Richtung des angelegten elektrischen Feldes). In vertikaler Richtung wandern alle niedrig und mittelhoch kondensierten Phosphate und das Grahamsche Salz (Natriumphosphatglas des Molverhältnisses $Na_2O:P_2O_5 = 1:1$) praktisch ebenso schnell wie das Lösungsmittel, dagegen hoch- und vor allem höchstviscoses Kurrolsches Salz $(KPO_3)_x$ wesentlich langsamer. — Es wurden zunächst in ausführlichen Untersuchungen folgende optimalen Versuchsbedingungen ermittelt. Spannung: (300-)400 V; Papier: Whatman IV oder Sch. & Sch. 2040b; Pufferlösung: 1 Teil Boratpuffer nach Clark von p_H 10 + 2 Teile Wasser, Konzentration der Phosphatlösungen: 0,02—0,005 m, für Kurrolsalz 0,12—0,5% (mit der etwa 3fachen Menge $Na_4P_2O_7$ oder NaCl als Lösungsvermittler), mit Zusatz von Bromphenolblau als Bezugssubstanz, Zimmertemperatur (möglichst kühl). — Die Reproduzierbarkeit ist nicht sehr gut, so daß nicht vorausgesagt werden kann, in welchem Auffanggläschen das jeweilige Phosphat sich am Ende befindet. — Zur Festlegung der Ablenkung eines bestimmten Phosphats wird als R_B das Verhältnis des Tangens von Ablenkungswinkel (Winkel zur Vertikalen) des Phosphats zum Tangens des Ablenkungswinkels von Bromphenolblau definiert. Es wird die für genügend niedermolekulare Ionen (nicht für Kurrol-Salz) angenähert geltende Beziehung $R_B = \frac{u_{\text{Phosphat}}}{u_{\text{Bromphenolblau}}}$ (u = elektrophoret. Ionenbeweglichkeit) abgeleitet. — In reinen 0,02 m bis 0,01 m Phosphatlösungen wurden folgende mittlere R_B-Werte (in Klammern) bei den optimalen Versuchsbedingungen (siehe oben) festgestellt: Monoph. (1,87), Diph. (1,93), Triph. (1,68), Trimetaph. (2,37), Tetrametaph. (2,04), Graham-Salz ($Na_2O:P_2O_5 = 0{,}9956:1$) (1,47), Kurrolsches K-Salz, hochviscos (1,43), Kurrolsches K-Salz, höchstviscos (1,26?). Hochkondensierte Phosphate verhalten sich günstiger als niederkondensierte (Streifenbreite usw.) Graham-Salz spaltet sich in 4 Streifen: Die der Hauptkomponenten (Hochkondensiertes Polyphosphat), des Trimeta-, des Tetrameta- und wahrscheinlich des Triphosphats. Die Natriumphosphatgläser mit $Na_2O:P_2O_5 = 1{,}4:1$—$1{,}25:1$ enthalten gleichfalls Trimetaphosphat (vgl. [4]). — Folgende Zweifachtrennungen gelingen bei p_H 10 quantitativ: 0,02 m Monoph. von 0,02 m Trimetaph. bzw. 0,5% Graham-Salz bzw. 0,5% Kurrol-Salz (niederviscos) bzw. 0,5% Kurrol-Salz (hochviscos); 0,02 m Diph. von 0,02 m Trimetaph. bzw. 0,5% Graham-Salz bzw. 0,5% Kurrol-Salz (niederviscos) bzw. 0,5% Kurrol-Salz (hochviscos) bzw. 0,5% Kurrol-Salz (höchstviskos); 0,01 m Triph. von 0,01 m Trimetaph. bzw. 0,5% Kurrol-Salz (niederviscos) bzw. 0,5% Kurrol-Salz (hochviscos); 0,02 m Trimetaph. von 0,5% Graham-Salz bzw. 0,5% Kurrol-Salz (niederviscos) bzw. 0,5% Kurrol-Salz (hochviscos); 0,5% Phosphat. glas ($Na_2O:P_2O_5 = 1{,}400$) von 0,5% Graham-Salz. Folgende Mehrfachtrennungen lassen sich quantitativ durchführen: Monoph.-Triph.-Kurrol Salz (hochviscos);

[1] Angew. Chem. **66**, 598—602 (1954). Phil.-Theol. Hochschule Regensburg.

[2] Grassmann, W.: D. B. P. 805399 (1949); Grassmann, W., u. K. Hannig: Naturwissenschaf.en **37**, 397 (1950); Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem., **292**, 32 (1953); vgl. diese Z. **140**, 293 (1953).

[3] Vorhergehende Mitteilungen vgl. B. Sansoni und R. Klement, Angew. Chem. **65**, 422, 423 (1953); vgl. diese Z. **141**, 463, 464 (1954).

[4] Grunze, H., u. E. Thilo: S.-B. dtsch. Akad. Wiss. Berlin, math.-naturwiss. Kl. 1953, Nr. 5; vgl. diese Z. **149**, 281 (1956).

Monoph.-Trimetaph.-Graham-Salz-Kurrol-Salz (höchstviscos); Diph.-Kurrol-Salz-Hühnereiweiß. — Fast quantitativ getrennt werden: Triph.-Trimetaph.-Tetrametaph.-Graham-Salz. In einigen Fällen werden bessere Trenneffekte bei p_H 8 erzielt. Die Methode eignet sich auch zur mikropräparativen Trennung. — Es wird darauf hingewiesen, daß sich die papierelektrophoretische Methode und die papierchromatographische nach Ebel u. Mitarb.[1] ergänzen.

K. W. Gerritsma und J. C. Frederiks[2] empfehlen für die *papierchromatographische Trennung der kondensierten Phosphate und die anschließende quantitative Bestimmung der einzelnen Anionen* eine Abwandlung der von Ebel u. Mitarb.[3], sowie von Westman, Crowther u. Mitarb.[4] angegebenen Verfahren. Der Methode der aufsteigenden Chromatographie wird der Vorzug gegeben. Das Papier Whatman 1 wird nacheinander mit 2 n Essigsäure, destilliertem Wasser, 0,1 n NH_3-Lösung und nochmals mit destilliertem Wasser gewaschen (von jeder Waschflüssigkeit genügen 3 l für 50 Bogen), bis noch höchstens 0,03 μg P/cm Papier vorliegen. Als Lösungsmittelgemisch werden 2 von Ebel angegebene[3] bevorzugt nämlich ein saures [Isopropanol-Wasser-Trichloressigsäure-Ammoniak (75:25:5 g:0,3 ml)] und ein ammoniakalisches [Propanol-Äthanol-Wasser-Ammoniak 25%ig (30:30:39:1)]. Das Sichtbarmachen der Flecken geschieht durch Besprühen mit saurer Molybdatlösung und anschließendes Bestrahlen mit UV-Licht (Blaufärbung). Die quantitative Bestimmung erfolgt durch Ausschneiden der Flecken, Eluieren mit NH_3-Lösung (hierfür wird eine besondere Apparatur beschrieben), vollständige Hydrolyse zu Orthophosphat und anschließende colorimetrische Bestimmung (vgl. W. I. M. Holman[5]). Der maximale Fehler dieser Methode soll 2% nicht überschreiten.

W. Dewald, H. Schmidt und K.-H. Neeb[6] haben die *bisher bekannten Bestimmungsmethoden von Pyro- und Tri(poly)-phosphat nebeneinander* überprüft. — Nach der Methode von R. N. Bell[7] gibt man zu der Lösung von p_H 3,8, die Pyro- und Triphosphat als saure Ionen $H_2P_2O_7^{2-}$ bzw. $H_2P_3O_{10}^{3-}$ enthält, Zinksulfat, wobei unter Bildung von schwerlöslichem $Zn_2P_2O_7$ bzw. des Komplexes $ZnP_3O_{10}^{3-}$, dessen Na-Salz relativ leicht löslich ist, Säure frei wird, die mit Natronlauge titriert wird. Der Niederschlag von $Zn_2P_2O_7$ wird nach nochmaligem Umfällen gravimetrisch bestimmt und Triphosphat aus der Differenz der bei der Titration verbrauchten und der für das Pyrophosphat berechneten NaOH-Menge bestimmt. Diese Methode führt zu falschen Ergebnissen, wenn weniger als 10% $Na_4P_2O_7$ vorliegen, da dann Pyrophosphat unvollständig ausfällt. Die verbesserte Methode von R. N. Bell, A. R. Wreath und W. T. Curless[8] umgeht diese Schwierigkeit durch Zusatz von reinem $Na_4P_2O_7$, jedoch ist dann die Fehlergrenze recht hoch. — Die Methode von L. T. Jones[9], der das Pyrophosphat bei p_H 4,1 als $Mn_2P_2O_7$ durch Zugabe von Manganchlorid ausfällt und die Ausfällung mit Aceton vervollständigt, führt zu ähnlichen, noch weniger befriedigenden Ergebnissen wie die von Bell. — W. R. Cale[10]

[1] Ebel, J.-P., u. Mitarb.: Bull. Soc. chim. France **20**, 991, 998, 1089, 1096 (1953); vgl. diese Z. **149**, 278 (1956).

[2] Chem. Weekbl. **1955**, 197—201 [Holländisch]. Central-Inst. Nahrungsmittelunters. T.N.O., Utrecht (Holland).

[3] Vgl. diese Z. **149**, 278 (1956).

[4] Vgl. diese Z. **149**, 283 (1956).

[5] Biochemic. J. **1943**, 256.

[6] Fette und Seifen **56**, 105—108 (1954). Chem. Werke Albert, Wiesbaden-Biebrich.

[7] Analyt. Chemistry **19**, 97 (1947).

[8] Analyt. Chemistry **24**, 1997 (1952); vgl. diese Z. **143**, 304 (1954).

[9] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **14**, 536 (1942).

[10] Canad. Chem. Process Ind. **1948**, 741.

bestimmt Pyrophosphat durch Messen der Fällungsgeschwindigkeit von $Zn_2P_2O_7$ bei p_H 3,5 mittels Trübungsmessung. Seine Ergebnisse konnten nicht reproduziert werden, was damit erklärt wird, daß sein als Testsubstanz verwendetes Natriumtriphosphat vermutlich $6^1/_2$—7% $Na_4P_2O_7$ enthalten hat. — Triphosphat bestimmt Cale[1] durch eine gemeinsame Titration von Pyro- und Triphosphat, die sich von der von Bell[2] empfohlenen nur dadurch unterscheidet, daß zum Zinksulfat noch ein Überschuß von Ammoniumchlorid zugefügt wird, der die Ausfällung von $Zn_2P_2O_7$ verhindert. Die Berechnung der vorliegenden Menge Triphosphat erfolgt entsprechend wie nach Bell. Von dem ohne Berücksichtigung des Pyrophosphatgehaltes errechneten Gehalt an Triphosphat muß der mit dem Faktor 1,4 multiplizierte Prozentgehalt an Pyrophosphat abgezogen werden. Die Methode führt bei Anwendung des Faktors 3,117 statt 3,0 für die Berechnung des Gehalts an $Na_5P_3O_{10}$ zu recht guten Ergebnissen, wenn der Pyrophosphatgehalt bekannt ist, was allerdings normalerweise nicht der Fall ist. Natriumphosphatgläser des Molverhältnisses $Na_2O : P_2O_5 > 1$ stören. Bei Abwesenheit solcher Gläser kann die Methode für Kontrollbestimmungen Verwendung finden. — Die empirische Methode von B. Raistrick, F. J. Harris und E. J. Lowe[3], die indirekt Tri- und Pyrophosphat nebeneinander in technischem $Na_5P_3O_{10}$ durch gemeinsame Fällung als $NaZn_2P_3O_{10} \cdot 9H_2O$ bzw. $Zn_2P_2O_7$ mit Zinkacetat in essigsaurer Lösung und Ermittlung des Zinkgehalts des Niederschlags bestimmen, führt zwar zum Ziel, jedoch ist die Fehlergrenze recht hoch. — Die Bestimmung der Calciumoleatlösewerte nach W. Dewald[4], die Abwesenheit von Orthophosphat voraussetzt, ergibt den Gehalt an $Na_5P_3O_{10}$ mit etwas größerer Genauigkeit als die Methode von Raistrick[3], jedoch wird bei Gegenwart von Natriumphosphatglas dieses mit erfaßt. Die Bestimmung von Pyrophosphat ist nach dieser Methode nur dann möglich, wenn weniger als 4% $Na_4P_2O_7$ vorliegen. In diesem Bereich ist sie bei Abwesenheit von Orthophosphat den übrigen Bestimmungsmethoden überlegen. Bei Vorliegen von 4—10% $Na_4P_2O_7$ ist dessen Bestimmung neben Triphosphat, für die die Methoden von Raistrick[3] oder die verbesserte Bellsche[5] in Frage kommen, eine höchst unbefriedigende Angelegenheit. Mehr als 10% $Na_4P_2O_7$ werden zweckmäßig nach Bell[2] bestimmt. W. Dewald

Bei der Bestimmung von wasserlöslichem Ortho-, Pyro- und Triphosphat nebeneinander machen L. E. Netherton, A. R. Wreath und D. N. Bernhart[6] von der Tatsache Gebrauch, daß Triphosphat in alkalischer Lösung entsprechend der Gleichung: $Na_5P_3O_{10} + 2NaOH \rightarrow Na_4P_2O_7 + Na_3PO_4 + H_2O$ gespalten wird, während Pyrophosphat unter den gegebenen Bedingungen stabil ist. Der Orthophosphatgehalt einer Mischung wird vor der alkalischen Hydrolyse colorimetrisch bestimmt, nach erfolgter Hydrolyse wird erneut eine Orthophosphatbestimmung durchgeführt die Differenz im Orthophosphatgehalt (P_2O_5) vor und nach der Hydrolyse mit drei multipliziert ergibt den dem Triphosphat zukommenden P_2O_5-Gehalt. Der Pyrophosphatgehalt als P_2O_5 errechnet sich aus dem Gesamtgehalt an P_2O_5 minus Tri- und ursprünglichen Orthophosphat-P_2O_5. Diese Methode, deren Zeitbedarf für eine Probe mit etwa 70 min angegeben wird, liefert jedoch nur dann zufriedenstellende Werte, wenn außer den drei genannten Phosphaten keine andere Poly- oder Metaphosphate vorliegen. — *Arbeitsvorschrift.* 1 g der zu untersuchenden Probe wird in

[1] Canad. Chem. Process Ind. **1948**, 741.

[2] Analyt. Chemistry **19**, 97 (1947).

[3] Analyst (London) **76**, 230 (1951); vgl. diese Z. **135**, 376 (1952).

[4] Diese Z. **138**, 91 (1953).

[5] Analyt. Chemistry **24**, 1997 (1952); vgl. diese Z. **143**, 304 (1954).

[6] Analyt. Chemistry **27**, 860—861 (1955). Victor Chem. Works, Chicago Heights, Ill. (USA).

Wasser gelöst und die Lösung auf 250 ml verdünnt. In einem aliquoten Teil wird der Orthophosphatgehalt entsprechend einer früheren Vorschrift[1] bestimmt. In einem 2. gleichgroßen aliquoten Teil wird der Gesamtphosphatgehalt nach erfolgter saurer Hydrolyse bestimmt[1]. Einem 3. aliquoten Teil (25 ml) werden in einem 250 ml-Becherglas 25 ml 50%ige Natriumhydroxydlösung und 100 ml Wasser zugesetzt. Nach 45 minutigem Kochen wird abgekühlt, die auf 50—80 ml eingedampfte Lösung anschließend in ein 100 ml-Meßkölbchen übergeführt und auf Volumen gebracht. 10 ml werden in ein 50 ml-Meßkölbchen pipettiert, das Kölbchen wird dann in ein Eisbad gestellt. 100 ml Ammoniummolybdatlösung (18,75 g Ammoniummolybdat + 150 ml konz. Schwefelsäure in 500 ml), 150 ml Aceton und 150 ml Wasser werden gemischt, die Mischung ebenfalls eisgekühlt. Die 10 ml werden dann mit der eisgekühlten, Aceton-Ammoniummolybdat-Wasser-Lösung zur Marke aufgefüllt, die Absorption wird nach 1 min gemessen. Der jetzige Orthophosphatgehalt minus dem ursprünglichen multipliziert mit 3 ergibt den dem Triphosphat zukommenden P_2O_5-Gehalt. Gesamt-P_2O_5 minus Ortho- und Triphosphat-P_2O_5 ergibt den Gehalt an Pyrophosphat.

Für die colorimetrische Bestimmung der nicht gebundenen Phosphorsäure in Alkylphosphaten sowie für die Bestimmung von Orthophosphat in kondensierten Phosphaten des Handels empfehlen D. N. Bernhart und A. R. Wreath[1] eine Modifikation des Molybdatverfahrens, die darin besteht, daß Aceton oder eine Aceton-Wasserlösung als Lösungsmittel dient. Dadurch wird es möglich, auch die wasserlöslichen Alkylphosphate zu untersuchen; Aceton bewirkt außerdem eine Erhöhung der Farbintensität der Phosphomolybdatlösung. Das Verfahren ist für Orthophosphat spezifisch. Mäßige Konzentrationen an Pyro-, Meta- oder Polyphosphat stören nicht. Die untere Grenze des erfaßbaren Orthophosphatgehaltes liegt bei 0,025 mg, die obere Grenze bei 3,00 mg P_2O_5 bei Verwendung eines entsprechenden Photometers. Die Messungen erfolgen bei 430 mμ, wobei die Standardkurven etwas von der Linearität abweichen. — *Arbeitsvorschriften.* A. *Freie Phosphorsäure in organischen Phosphaten*: 1 g der zu untersuchenden Probe wird in Aceton gelöst und mit Aceton auf 100 ml verdünnt. 5 ml dieser Lösung versetzt man in einem 25 ml-Meßkolben mit 2 ml Ammoniummolybdatlösung (18,8 g Ammoniummolybdat + 150 ml 98%ige Schwefelsäure in 500 ml), füllt mit Aceton zur Marke auf und mißt die Absorption bei 430 mμ. Eine Blindprobe wird in gleicher Weise angesetzt, der P_2O_5-Gehalt aus der Eichkurve abgelesen. B. *Orthophosphat in Polyphosphaten* (Pyro-, Meta-, Tripolyphosphat): 1 g Probe wird in Wasser gelöst, die Lösung auf 100 ml aufgefüllt. 1 ml der Lösung wird im 25 ml-Meßkolben mit 2 ml Ammoniummolybdatlösung und 10 ml Aceton versetzt und mit Wasser aufgefüllt. Die Messung erfolgt wie oben. C. *Bestimmung von Gesamtphosphat.* 1. *Anorganische Phosphate.* 0,5 g der Probe werden mit 10 ml Perchlorsäure erhitzt. (Handelt es sich um ein Orthophosphat, so wird mit Wasser auf 100 ml verdünnt und nach Zusatz von 10 ml Perchlorsäure 5 min gekocht.) Nach Verdünnen auf 500 ml gibt man einen aliquoten Teil, enthaltend 1,5—2,5 mg P_2O_5, in einem 50 ml-Meßkolben. Zur gleichen Zeit werden 2 ml einer Phosphatstandardlösung (2 mg P_2O_5) in einen zweiten 50 ml-Meßkolben gegeben. Nach Zusatz von 10 ml Ammoniummolybdatlösung und 25 ml Aceton werden die Kolben zur Marke aufgefüllt. Die Absorption der Probelösung wird nun gegen die Standardlösung gemessen und der P_2O_5-Gehalt einer Eichkurve entnommen, die entsprechend hergestellt wurde. 2. *Organische Phosphate*: 50—100 mg der Probe werden in einer Parr-Halbmikrobombe oder mit einer Mischung von 25 ml Salpetersäure und 10 ml Perchlorsäure oxydiert. Letztere Methode wird nur dann

[1] Bernhart, D. N., und A. R. Wreath: Analyt. Chemistry 27, 440—441 (1955).

angewandt, wenn Phosphor über Sauerstoff an Kohlenstoff gebunden ist. Nach Verdünnung wird ein aliquoter Teil (1,5—2,5 mg P_2O_5) in einen 50 ml-Meßkolben gegeben und wie oben beschrieben weiter behandelt.

H. W. McCune und G. J. Arquette[1] untersuchten die Eignung von *Tris-(äthylendiamin)-kobalt(III)-chlorid* $[Co(en)_3Cl_3]$, *Hexamminkobalt(III)-chlorid* $[Co(NH_3)_6Cl_3]$ *und Tris-(propylendiamin)-kobalt(III)-chlorid* als spezifische Fällungsreagentien für *kondensierte Phosphate*. Während Tris-(propylendiamin)-kobalt(III)-chlorid lediglich mit dem hochkondensierten Polyphosphat ($\bar{n} = 11$) Fällungen ergab, wirkt $[Co(en)_3Cl_3]$ bei einem p_H-Wert von 3,5 nur auf Triphosphat (Ausbeute 98—99,5%) und bei p_H 6,5 nur auf Pyrophosphat (etwa 93% Ausbeute) ausfällend. Die bei 110° C getrockneten Niederschläge besitzen die Zusammensetzung $Co(en)_3H_2P_3O_{10} \cdot 2H_2O$ bzw. $Co(en)_3HP_2O_7$. Ortho-, Trimeta- und Tetrametaphosphat werden nicht ausgefällt. Liegen jedoch Tri- und Pyrophosphat gemeinsam vor, so enthält der Triphosphatniederschlag Pyrophosphat, während ein Teil des Triphosphats in der Lösung zurückbleibt. Eine Reinigung des mit Pyrophosphat verunreinigten Triphosphatniederschlags durch Umfällung ist wegen der großen Zahl der notwendigen Umfällungen zu zeitraubend. $[Co(NH_3)_6Cl_3]$ fällt sowohl Pyro- ($NaCo(NH_3)_6P_2O_7$) als auch Triphosphat ($Na[Co(NH_3)_6]_3(P_3O_{10})_2$) wobei die Ausbeute mit steigendem p_H-Wert zunimmt. Da auch Orthophosphat (als $Co(NH_3)_6PO_4$) ausgefällt wird, ist $Co(NH_3)_6Cl_3$ als Reagens kaum von Bedeutung. Bei der Nachprüfung der von H. A. Laitinen und L. W. Burdett[2] beschriebenen amperometrischen Titration von Pyrophosphat mit $Co(NH_3)_6Cl_3$-Lösung fanden die Verff., daß die durch andere Phosphate (besonders Tri- und Orthophosphat) verursachten Störungen größer sind als angegeben wurde. Eine amperometrische Titration von Triphosphat mit $[Co(en)_3Cl_3]$ ergibt befriedigende Werte bei Triphosphat allein. Liegt Pyrophosphat in etwa dem zehnten Teil der molaren Konzentration vom Triphosphat vor, so werden falsche Ergebnisse erhalten. Bemerkenswert ist jedoch, daß andere Phosphate, Sulfat und Silicat nicht stören. Eine colorimetrische Methode für Triphosphat auf dieser Grundlage wurde entwickelt[3].

Eine röntgenographische Analysenmethode zur Bestimmung von Pyro- und Tri-(poly)phosphat in Mischungen solcher Verbindungen wird von A. J. Mabis und O. T. Quimby[4] beschrieben. Diese physikalische Methode ist insofern besonders wertvoll, als sie die Bestimmung von Natriumpyrophosphat, der beiden kristallwasserfreien Phasen des Natriumtri(poly)phosphats ($Na_5P_3O_{10}$I und $Na_5P_3O_{10}$II) und des Hexahydrats der gleichen Verbindung ($Na_5P_3O_{10} \cdot 6H_2O$) erlaubt. Bei der Analyse von Mischungen bekannter Zusammensetzung (wobei für jede Verbindung der Bereich von 0—100% untersucht wurde) ergab sich, daß der durchschnittliche Analysenfehler etwa 3% beträgt. Der nach dieser Methode gefundene Gesamtgehalt an Tri-(poly)phosphat stimmt mit dem Ergebnis der chemischen Methode selbstverständlich nur dann überein, wenn eine vollkristalline Probe vorliegt. Wegen experimenteller Einzelheiten, Eichkurven für die einzelnen Mischungskomponenten, Angaben über die Analyse unbekannter Mischungen bzw. Handelsproben usw. wird auf das Original verwiesen. H. Schmidt, Wiesbaden

Ein Verfahren zur Bestimmung von Triphosphat und Pyrophosphat nebeneinander durch fraktionierte Kristallisation aus Alkohol-Wassergemischen nach vorangegan-

[1] Analyt. Chemistry **27**, 401—405 (1955). Procter & Gamble Co, Cincinnati, Ohio.
[2] Analyt. Chemistry **23**, 1265 (1951).
[3] Weiser, H.: 126th Meeting of the Amer. chem. Soc., New York, Sept. 1954.
[4] Analyt. Chemistry **25**, 1814—1818 (1953). Procter & Gamble Co., Cincinnati, Ohio.

gener Indizierung mit bekannten Mengen $Na_5{}^{32}P_3O_{10}$, $Na_4{}^{32}P_2O_7$ bzw. $Na_3{}^{32}P_3O_9$ beschreiben O. T. Quimby, A. J. Mabis und H. W. Lampe[1]. — *Arbeitsvorschrift.* a) Abtrennung von reinem $Na_5P_3O_{10}$. Eine bekannte Menge (Größenordnung Milligramm) von markiertem $Na_5{}^{32}P_3O_{10}$ bekannter spezifischer Aktivität und eine größere Menge (gewöhnlich 5—10 g) der Analysenprobe werden in Wasser von Zimmertemperatur gelöst (8 ml H_2O je Gramm Phosphathydrat), zu der Lösung wird unter dauerndem Rühren tropfenweise Äthanol (0,5—1 ml/min) zugefügt, bis das Volumverhältnis Äthanol/Wasser — 1:4 beträgt. Das ausgefällte $Na_5P_3O_{10} \cdot 6H_2O$ wird auf einer Glasfritte mittlerer Feinheit abfiltriert, mit 50%igem, dann absolutem Äthanol gewaschen und das ungefähre Gewicht der Kristallfraktion bestimmt. Die Kristallisation wird 4 mal wiederholt. b) Abtrennung von reinem $Na_4P_2O_7$. Das Verfahren ist analog dem unter a) beschriebenen. Die abgeschiedene Phase besteht aus $Na_4P_2O_7 \cdot 10H_2O$. Das Verhältnis Wasser zu festem Salz beträgt 14—16 ml/g Salz. c) Aktivitätsbestimmung. Die durch Fraktionierung gewonnenen markierten Salzhydrate werden durch 2stündiges Erhitzen auf 400° C entwässert; die spezifische Aktivität von 200 mg-Portionen wird vor einem abgeschirmten Endfensterzähler mit der spezifischen Aktivität des anfangs zugesetzten aktiven Salzes unter identischen Bedingungen verglichen. Ist a Milligramm markiertes Salz der spez. Aktivität s_0 anfänglich zugesetzt worden und beträgt die spez. Aktivität des isolierten Salzes s, so ist die Menge b des in der Analysensubstanz enthaltenen Phosphates der zu bestimmenden Art: $b[\text{mg}] = a(s_0/s - 1) = a(Z - 1)$. Da, wie am System $Na_4P_2O_7/Na_5P_3O_{10}$ gezeigt wird, die Isolierung reiner $Na_5P_3O_{10}$-Fraktionen nur bei einem Verhältnis $Na_5P_3O_{10}:Na_4P_2O_7 > 7:3$, diejenige reiner $Na_4P_2O_7$-Fraktionen aber nur für $< 7:3$ möglich ist, ist es erforderlich durch Zugabe bekannter Mengen von inaktivem $Na_5P_3O_{10}$ bzw. $Na_4P_2O_7$ ein Verhältnis $> 4:1$ für die Triphosphat- und $< 3:2$ für die Pyrophosphatanalyse einzustellen. Ist die zugesetzte Menge inaktiven Salzes c, so gilt dann statt der obigen Beziehung für b die Gleichung $b = a(Z - 1) - c$, und, da im allgemeinen $Z \gg 1$ ist, so ist $b = aZ - c$. Die erforderliche Einstellung der Verhältnisse 4:1 und 3:2 hat zur Folge, daß bei einem $Na_4P_2O_7$-Gehalt $< 10\%$ bzw. einem $Na_5P_3O_{10}$-Gehalt $< 18\%$ des Gesamtphosphates die relativen Fehler der Bestimmung bis zu 20% betragen. — Beleguntersuchungen an Waschmitteln werden mitgeteilt. Die Kristallisationskurven der Systeme, $Na_4{}^{32}P_2O_7/Na_3P_5O_{10}$ (inakt.), $Na_2H^{32}PO_4/Na_5P_3O_{10}$, $Na_2{}^{35}SO_4/Na_5P_3O_{10}$, $Na_3{}^{32}P_3O_9/Na_5P_3O_{10}$, $Na_5{}^{32}P_3O_{10}/Na_4P_2O_7$, $Na_2H^{32}PO_4/Na_4P_2O_7$, $Na_2{}^{35}SO_4/Na_4P_2O_7$ und $Na_3{}^{32}P_3O_9/Na_4P_2O_7$ werden angegeben. Die präparative Darstellung der verwendeten aktiven Salze $Na_5{}^{32}P_3O_{10}$, $Na_4{}^{32}P_2O_7$, $Na_3{}^{32}P_3O_9$, $Na_2H^{32}PO_4$ und $Na_2{}^{35}SO_4$ aus (von Oak Ridge) gelieferten $H_3{}^{32}PO_4$ bzw. $H_2{}^{35}SO_4$ wird beschrieben.

F. Weigel

J.-P. Ebel und Juliette Colas[2] untersuchen *schwerlösliche Verbindungen zwischen kondensierten Phosphaten und organischen Basen* im Anschluß an Arbeiten anderer Autoren[3]. — Die hochkondensierten Polyphosphate des Graham-Salzes werden durch folgende niedermolekularen organischen Basen nichtbiologischer

[1] Analyt. Chemistry **26**, 661–667 (1954). Procter & Gamble Co. Cincinnati, Ohio.

[2] C. R. Acad. Sci. (Paris) **239**, 173—175 (1954). Univ. Straßburg.

[3] Schofield, R. K.: Trans. Faraday Soc. **31**, 390 (1935); Perlmann, G., and H. Herrmann: Biochemic. J. **32**, 926 (1938); Perlmann, G.: J. biol. Chemistry **137**, 707 (1941); Gustavson, K. H., u. A. Larsson: Acta. chem. scand. (Kopenhagen) **5**, 1221 (1951); Courtois, J. E., et R. Barré: Bull. Soc. Chim. biol. **35**, 913, 921 (1953); Neu, R.: Vgl. diese Z. **131**, 102 (1950); vgl. auch diese Z. **135**, 67 (1952); **140**, 65, 66 (1953); **145**, 312 (1955); Dewald, W., u. H. Schmidt: diese Z. **136**, 420 (1952).

Herkunft gefällt: Monoamine (Anilin, β-Naphthylamin, Phenetidin), Diamine (Äthylendiamin, p- und m-Phenylendiamin, m-Tolyendiamin, Diaminophenol, Benzidin, Diaminobenzidin, o-Tolidin, Dianisidin) und Hydrazide(Phenylhydrazin). In gewissen Aciditätsbereichen können auch kurzkettige Polyphosphate und cyclische Metaphosphate gefällt werden, z. B. durch Diaminobenzidin und o-Tolidin auch Pyro- und Tri(poly)- sowie Tetrametaphosphat. Benzidin bildet in stark saurer Lösung nur mit hochkondensierten Phosphaten Niederschläge. Im allgemeinen sind die Fällungen nicht quantitativ (meist 70—100%). Mit einem Reagens aus 1 g Benzidin + 50 ml Alkohol (96%) + 49 ml H_2O + 1 ml Essigsäure fallen Orthophosphat und alle kondensierten Phosphate quantitativ. — Folgende organischen Basen von biologischer Bedeutung geben im p_H-Bereich zwischen 2,0 und 4,0 Niederschläge mit GRAHAM-Salz: Bibasische Aminosäuren (Arginin, Histidin, Lysin, Ornithin), Dipeptide (Histidylhistidin), Guanidinabkömmlinge (Arcain, Agmatin) und Amine (Histamin). Mit Oligo-(Pyro-, Tri-) Phosphaten und cyclischen Metaphosphaten tritt keine Fällung ein. Der p_H-Wert ist von ausschlaggebender Bedeutung. In salzsaurer Lösung kann man Arginin und Histidin mit GRAHAM-Salz fällen, jedoch nicht Lysin und Ornithin, in essigsaurer Lösung fallen alle vier. Mit Säureüberschuß lassen sich alle diese Verbindungen wieder zersetzen. Je höher kondensiert das Phosphat ist, desto schwerer löslich ist die Verbindung. Meist sind auch mit GRAHAM-Salz die Fällungen nicht quantitativ (50—80%, unter günstigen Bedingungen bis 95%). Die Fällungen können mit Vorteil für die Isolation biologischer Basen angewandt werden. W. DEWALD

Für die Bestimmung von Nickel und den Nachweis von Kupfer und Eisen in Kobaltsalzen kann nach J. DOLEŽAL und P. HOFMANN[1] die *oscillographische Polarographie*[2] dienen. Man arbeitet wie früher in einer Lösung, die Kaliumpyrophosphat und Äthylendiamintartrat enthält[3]. Die Durchführung der oscillographischen Methode ist genau beschrieben. A. KURTENACKER

Platinmetalle. Nach W. M. MACNEVIN und O. H. KRIEGE[4] läßt sich *Palladium komplexometrisch* unter Anwendung der von W. F. HARRIS und T. R. SWEET[5] für Kobalt angegebenen Arbeitsweise bestimmen. Man versetzt 0,6—30 mg Pd enthaltende Lösungen mit einem geringen Überschuß Komplexon III, stellt auf p_H 10 ± 1 ein und titriert mit Zinknitratlösung unter Verwendung von Eriochromschwarz T als Indicator zurück. Rhodium und Osmium müssen abwesend sein. Iridium und Ruthenium stören, wenn sie in mindestens gleicher Konzentration wie die zu bestimmende Palladiummenge zugegen sind; Platin(II) und Platin(IV) stören nicht. K. BRODERSEN

P. CHAMP, P. FAUCONNIER und CL. DUVAL[6] untersuchten die für die *gewichtsanalytische Bestimmung des Platins* in Betracht kommenden Niederschläge in bezug auf ihr Verhalten beim Erhitzen auf der Thermowaage. Zur Untersuchung kamen jeweils etwa 200 mg Niederschlag, erhitzt wurde an der Luft bei gleichmäßiger Temperatursteigerung mit der Geschwindigkeit von 300°C je Stunde. Die Thermolyse-

[1] Chem. Listy **48**, 1610—1615 (1954) [Tschechisch]. Univ. Prag.

[2] Vgl. R. KALVODA und J. MACKŮ: Chem. Listy **48**, 378 (1954); R. KALVODA, O. MACH und J. DOLEŽAL: Chem. Listy **48**, 1688 (1954).

[3] DOLEŽAL, J., und P. HOFMANN: Chem. Listy **48**, 1325, 1329 (1954); vgl. diese Z. **147**, 70, 144 (1955).

[4] Analyt. Chemistry **27**, 535—536 (1955). State Univ., Columbus, Ohio (USA).

[5] Analyt. Chemistry **26**, 1649 (1954); vgl. diese Z. **147**, 143 (1955).

[6] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **10**, 443—447 (1954). Administr. des Monnaies und École Nat. Sup. Chim., Paris.

kurven wurden in üblicher Weise photographisch aufgenommen[1]. Von den 12 geprüften Fällungsverfahren eignet sich die Thiophenolmethode von J. E. Currah, W. A. E. McBryde, A. J. Cruikshank und F. E. Beamish[2] am besten zur gravimetrischen Platinbestimmung. Der grüngelbe Niederschlag verhält sich beim Erhitzen ähnlich wie der entsprechende Goldniederschlag[1]. Zwischen 230° und 300° C entspricht das Gewicht genau der Formel $Pt(C_6H_5S)_2$ (Umrechnungsfaktor auf Pt = 0,4698). Zwischen 300° und 455° C findet Zersetzung statt und darüber hinaus bis 960° C besteht der Rückstand aus Platinmetall von konstantem Gewicht. Zur Bestimmung gut verwendbar sind auch die bereits früher[1] untersuchten Chloroplatinate von NH_4, K, Rb, Cs, Tl sowie der mit H_2S erhaltene Niederschlag. Dieser nimmt beim Erhitzen ständig an Gewicht ab, ohne einen der Formel PtS_2 entsprechenden Haltepunkt. Oberhalb 421° C ist der Rückstand Platinmetall. Die mit Thioformamid oder Thiosemicarbazid erhaltenen Niederschläge verhalten sich ähnlich. Die mit Tetraphenylarsoniumbromid[3] sowie mit α-Furyldioxim[4] gefällten Niederschläge haben keine definierte Zusammensetzung. W. Gottwald

R. Gilchrist[5] gibt einen *Überblick über die Methoden der Trennung der Platinmetalle*, die hauptsächlich vom National Bureau of Standards unter maßgeblicher Mitwirkung des Verfassers ausgearbeitet wurden. Die Abtrennung des Platins von Pd, Rh und Ir erfolgt mit Hilfe der Hydrolyse. Man oxydiert mit Bromat und bringt auf p_H 6, wobei alle Metalle außer Pt vollständig gefällt werden. Pt bleibt in Lösung. Aus der Pt-freien Lösung kann Pd mit Dimethylglyoxim abgetrennt werden. Rh und Ir werden mit Ti^{III} zum Metall reduziert. Os kann mit konz. Salpetersäure und Schwefelsäure als OsO_4 abdestilliert werden. Wenn Ru vorhanden ist, darf keine Salpetersäure verwendet werden, da sonst auch RuO_4 gebildet wird. Dieses Element wird in alkalischer Lösung mit Cl_2 als RuO_4 abdestilliert. Beide Tetroxyde werden in 6 n Salzsäure, die mit SO_2 gesättigt ist, absorbiert. Die Metalle können nach dem Eindampfen als Oxydhydrate gefällt und im H_2-Strom zum Metall verglüht werden. Auch Ir und Rh können so behandelt werden. Platin wird mit H_2S gefällt, das Sulfid wieder gelöst und mit Ameisensäure bei p_H 4 (Bromphenolblau) zum Metall reduziert. Auch Pd wird nach der Fällung mit Dimethylglyoxim in das Metall übergeführt. Geschieht die Reduktion mit H_2, so muß anschließend im CO_2-Strom erhitzt werden, um den absorbierten Wasserstoff zu entfernen. — Die Abtrennung von anderen Metallen gelingt bei Pt, Rh und Ir auch durch Überführen in die Hexanitrokomplexe, die bei p_H 12—14 noch beständig sind, während die anderen Metalle als Hydroxyde ausfallen. — Der Aufschluß von Mineralien und Legierungen kann bei 300° C im Einschlußrohr aus Pyrexglas mit 20 Teilen Salzsäure + 1 Teil Salpetersäure oder der äquivalenten Menge $NaClO_3$, Überchlorsäure oder Chlor vorgenommen werden. G. Denk

III. Chemische Analyse organischer Stoffe

1. Elementaranalyse

Eine Fortschrittsübersicht über Schnellmethoden der organischen Mikroanalyse gibt W. Schöniger[6]. Verf. geht besonders auf *neue Waagentypen* ein. Erwähnt und

[1] Vgl. Cl. Duval, Inorganic Thermogravimetric Analysis. Elsevier Co., Amsterdam und London 1953.

[2] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **18**, 120 (1946).

[3] Bode, H.: diese Z. **133**, 95 (1951).

[4] Ogburn, S. C., jr.: J. Amer. chem. Soc. **48**, 2493, 2507 (1926); vgl. diese Z. **78**, 473, 474 (1929).

[5] Rev. Métallurgie **52**, 287—293 (1955).

[6] Angew. Chem. **67**, 261—265 (1955). Sandoz AG, Basel (Schweiz).

beschrieben werden die reiterlosen Mikrodämpfungswaagen der Firmen Sartorius und Oertling sowie die Mikrowaage der Firma Mettler. Bei der Mettler-Waage wird im Gegensatz zu den beiden anderen stets unter gleichbleibender Belastung gewogen, so daß keine Empfindlichkeitsänderung eintritt. Die neueren Methoden der C-, H-, N-, S-, O- und Halogen-Bestimmung werden ebenso wie neuere Bestimmungsmethoden funktioneller Gruppen angeführt. Verf. betont, daß bei Einrichtung eines mikroanalytischen Labors auf möglichst kurze Arbeitswege geachtet werden soll. Er empfiehlt die Unterbringung der Waagen im gleichen Raum, in dem auch die Verbrennungsapparaturen stehen. Voraussetzung dafür ist allerdings, daß nur elektrische Heizung verwendet wird und daß der Raum klimatisiert ist. K. Brodersen

Über die Anwendung von Halogen-Kobalt(II)-acetat-Essigsäure als Reagentien in der qualitativen organischen Analyse berichtet Ph. C. Daidone[1]. Gewisse Gruppen von organischen Stoffen bewirken eine Umfärbung der gelben Reagenslösung nach Blau oder Grün. Eine sofort eintretende Färbung zeigt aktive Gruppen an. Blaufärbung rührt von ungesättigten Verbindungen (aktiven Doppelbindungen) her. Resonanzstrukturen wie Benzol oder Fumarsäure reagieren nicht. Oxydierte Verbindungen wie Aldehyde, Ketone oder Äther geben verschiedene Nuancen von Grünfärbung. Nitroverbindungen geben ebenfalls sofort Färbungen, bei Anilinderivaten sind sie besonders intensiv. Verbindungen, die der Halogenierung widerstehen, z. B. Dibutylsebacat, geben keine Farbreaktion. — *Ausführung.* Es werden zwei Reagentien angewendet, nämlich das Brom- und das Chlorreagens. Man vermischt 0,5 ml Substanz mit 1,0 ml Reagens und beobachtet die Farbreaktion sofort und nach 2 Std. Das Brom-Kobalt(II)-acetatreagens bereitet man durch Auflösen von 2,5 g Kobaltacetattetrahydrat in 1 l Eisessig. Hierzu fügt man 8,1 g Brom in etwa 1 l Eisessig und verdünnt auf 3 l. Das Reagens bewahrt man in braunen Flaschen auf. Das Chlorreagens stellt man durch Sättigen einer Lösung von 2,5 g Kobaltacetattetrahydrat in 1 l Eisessig mit Chlorgas her. Frischbereitung ist immer wegen des Chlorverlustes notwendig. *Einzelne Reaktionsergebnisse mit Bromreagens* (I sofortige Färbung, II Färbung nach 2 Std): Blindprobe I und II gelb; *Pyridin*, I und II lavendelfarben; *Monoäthanolamin*, I und II lavendelfarben; *Dicyandiamid*, I und II grün; *Benzaldehyd*, I olivgrün, II grün; *Aceton*, I gelb, II blau; *Glycerin*, keine Reaktion; *Äthyläther* I grün, II blaugrün; *Dioxan* I und II grün, *Linolsäure* I blaugrün, II olivgrün; *Ölsäure* I blau, II hellblau; *Butyloleat* I blau, II blaugrün; *Äthylacetat* I gelb, II blau; *2-Naphthol* I grün, II dunkelgrün. — *Reaktionsergebnisse mit Chlorreagens. Pyridin*, I und II purpur, *Anilin*, I und II dunkelbraun; *Dimethylanilin* I dunkelgrün, II sehr stark dunkelgrün; *Monoäthanolamin* I und II tiefblau; alle folgenden nur I: *2,4-Dinitrophenylhydrazin* grün, *Dicyandiamid* blau, *Aceton* keine Reaktion, *Benzaldehyd* hellolivgrün, *Phenol* blaugrün, *Phloroglucin* blaugrün, *2-Naphthol* blaugrün, *Dioxan* grün, *Benzol* keine Reaktion, *Toluol* hellgrün, *Xylol* blau, *Ölsäure* blau, *Butyloleat* blau, *Äthylacetat* blau, *Petroläther* blau, Fumarsäure keine Reaktion. Im Original ist das Verhalten einer Anzahl weiterer Verbindungen angegeben. H. Freytag

Ammoniumsulfamat als Ersatz für Bleidioxyd bei der Mikrobestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff wird von A. S. Hussey, J. H. Sorensen und D. D. deFord[2] empfohlen. Durch die Anwendung des Ammoniumsulfamats entfallen die Blindwerte, die bei erschöpft gebrauchtem Bleidioxyd in Erscheinung treten. — Zur Sulfamatherstellung werden 97 g Amidosulfonsäure unter Erwärmen in 60 ml 28%igem Ammoniak unter Zusatz von 50—60 ml Wasser gelöst. Die Lösung wird mit 200 g

[1] Analyt. Chemistry **27**, 103—104 (1955). Baker Castor Oil Co., Bayonne N.J.
[2] Analyt. Chemistry **27**, 280—281 (1955). Northwest. Univ. Evanston, Ill. (USA).

Silicagel (14—20 mesh) gut vermischt. Etwa $^2/_3$ des Wassers werden bei Zimmertemperatur an der Wasserstrahlpumpe entfernt, dann wird filtriert und erst an der Luft, schließlich bei 105—110° C getrocknet. — *Methode.* Ein geeignetes Absorptionsröhrchen wird an der Eintrittsstelle mit dem Präparat, an der Austrittsstelle mit dem Wasserabsorptionsmittel beschickt und zwischen Wasser- und Kohlendioxydabsorptionsröhrchen geschaltet. An Stelle der PbO_2-Schicht kommt in das Verbrennungsrohr eine Schicht Silbernetz oder Silberwolle, die auf 175° C erhitzt wird. — Analysen zahlreicher stickstoff- und schwefelhaltiger Substanzen beweisen die Brauchbarkeit des Verfahrens. Th. Breyhan

Zur Bestimmung von Kohlenstoff und Fluor in organischen Verbindungen mit hohem Fluorgehalt empfehlen H. E. Freier, B. W. Nippoldt, P. B. Olson und D. G. Weiblen[1] das Verfahren von H. S. Clark[2], das insofern abgeändert wird, als man bei 1150° C statt bei 900° C verbrennt. Der Verbrennungssauerstoff wird schwach angefeuchtet. Das Absorptionsgefäß nach Grote und auch die acidimetrische Titration werden gegenüber Clark etwas abgeändert. Kohlenstoff und Fluor lassen sich nach dem modifizierten Verfahren mit einem Relativfehler von 1% ermitteln. Die meisten Schwefel enthaltenden Verbindungen machen bei der Analyse keine Schwierigkeiten. Verbindungen mit niederwertigem Schwefel liefern aber mitunter zu hohe Fluor- und Kohlenstoffwerte. Diesem Übelstand kann man abhelfen, indem man in die heiße Zone des Ofens mit Vanadinpentoxyd (Katalysator der Schwefeloxydation) imprägnierte Quarzstücke einbringt und zwischen den Grote-Absorber und das Trockenrohr mit Schwefelsäure eine kleine mit saurer Permanganatlösung beschickte Falle schaltet. Metalle, die glühbeständige Fluoride bilden, verursachen zu niedrige Fluorwerte. Stickstoffverbindungen, die zu sauren Stickoxyden führen, verhindern die Fluor-Titration, doch verläuft die Kohlenstoffbestimmung glatt. Phosphorverbindungen stören nicht. — *Ausführung.* Der wie üblich gereinigte Sauerstoff wird durch einen Druckregler und dann durch einen mit Wasser gefüllten Blasenzähler in das Verbrennungsrohr aus Quarz (etwa 65 cm lang, 11 mm äußerer Durchmesser) eingeleitet. Die eingeführte feste Probe kann durch einen kleinen beweglichen elektrischen Ofen auf 800—900° C erhitzt werden. Die weitere Füllung des Rohres ist die gleiche wie bei Clark, die Platinkontaktschicht wird auf 1100°—1200° C erhitzt. Die aus dem Rohr austretenden Gase strömen durch das mit Wasser beschickte Absorptionsgefäß nach Grote, an dem an der Gaseintrittsstelle ein Hahn angebracht ist, der die Entfernung der sauren Lösung erleichtert. Anschließend werden die Gase in Absorptionsgefäßen mit konz. Schwefelsäure und Anhydron getrocknet und strömen dann durch die gewogenen Ascaritröhren zur CO_2-Absorption. Den Abschluß bilden die üblichen Schutzrohre und eine Mariottesche Flasche zur Regelung der Gasgeschwindigkeit. Das Grote-Absorptionsgefäß wird am besten aus Quarz hergestellt, doch ist auch Borsilicatglas geeignet. Die Verbrennung wird wie üblich durchgeführt (die besondere Arbeitsweise bei gasförmigen oder leicht flüchtigen Proben ist im Original ausführlich beschrieben). Nach der Verbrennung werden die Ascaritröhren abgenommen und gewogen. Ein mit der gleichen Sauerstoffmenge unter den gleichen Bedingungen bestimmter Leerwert wird vom Gewicht abgezogen, die Differenz wird auf den Kohlenstoffgehalt umgerechnet. Der Inhalt des Grote-Absorbers wird in einen Titrierkolben gespült (zweckmäßig unter Verwendung kleiner Anteile der 0,01 n Alkalilauge mit Zusatz von etwas Phenolphthaleinlösung). Dann titriert man weiter bis zur ersten Rotfärbung, kocht einige Minuten, um CO_2 auszutreiben

[1] Analyt. Chemistry **27**, 146—149 (1955). Minnesota Mining and Manufacturing Co., St. Paul, Minn. (USA).

[2] Analyt. Chemistry **23**, 659 (1951); vgl. diese Z. **134**, 379 (1951/52).

und titriert nach dem Abkühlen zu Ende. Der Titer der Lauge wird am besten gestellt, indem man einige Verbrennungen von Substanzen mit bekanntem Fluorgehalt (z. B. Perfluorbuttersäure, Polytetrafluoräthylen, 1,1-Dihydroperfluorbutylacrylat oder Perfluorpropan) in der gleichen Apparatur durchführt. Dann erübrigt sich die von CLARK angegebene Korrektur für den Borgehalt des Glases.

H. FREYTAG

Radiokohlenstoff. *Die Verwendung eines Hochfrequenz-Induktionsofens zur Bestimmung in organischen Substanzen* beschreiben A. M. GAUDIN und H. E. BERGNA[1]. Die Probe wird mit Eisenpulver gemischt im O_2-Strom verbrannt. Das Eisenpulver dient zur Induktion der Hitze in dem nichtleitenden Material. Als Induktionsofen verwenden die Verff. den im Handel erhältlichen FISHER-Ofen zur C-Bestimmung in Metallen, der Temperaturen bis zu 1600° C zu erreichen gestattet. Nach Befreiung von SO_2 und H_2O mittels Mangandioxyd und Magnesiumperchlorat wird das entwickelte Kohlendioxyd in mit flüssigem Stickstoff gekühlten Fallen kondensiert und dann mit dem GEIGER-Zähler gemessen. Das Verfahren sollte vor allem dazu dienen, um Spuren organischer Substanz in Mineralien zu bestimmen. Die Prüfsubstanz (aktive Laurinsäure) wurde deshalb mit Quarzpulver gemischt. Das Verbrennungsschiffchen aus Alundum (Sinterkorund) wird zur Hälfte mit granuliertem Alundum gefüllt und dieses gleichmäßig mit 0,5 g gepulvertem Elektrolyteisen bedeckt. Darauf kommt eine innige Mischung von 1 g Quarz mit 3—5 mg Laurinsäure, darüber werden 0,5 g einer 1 : 1-Mischung von granuliertem Zinn und Eisenpulver aufgebracht, das Ganze wird schließlich mit weiterem Elektrolyteisen und granuliertem Alundum bedeckt. — Die Standardabweichung einer Einzelbestimmung von 3—5 mg Laurinsäure betrug weniger als 3,5%, was als zufriedenstellend angesehen wird.

Ein Verfahren zur Bestimmung von ^{14}C in organischen Verbindungen durch Verbrennung im zugeschmolzenen Rohr beschreiben K. E. WILZBACH und W. Y. SYKES[2]. — *Arbeitsvorschrift.* In das Verbrennungsrohr *A* aus Pyrexglas (Abb. 1)

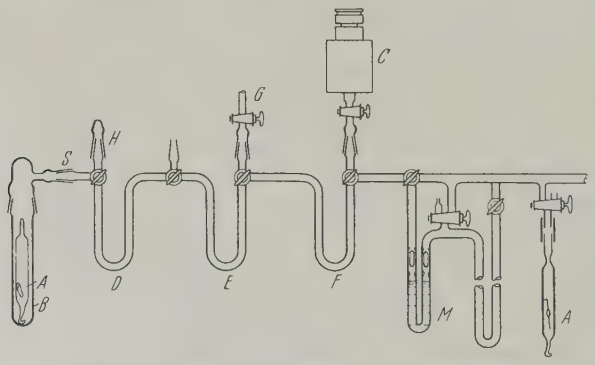


Abb. 1. Apparatur zur Kohlenstoffbestimmung in organischen Substanzen nach WILZBACH und SYKES

von 17 cm Länge und 11 mm⌀, dessen eines Ende zu einer Zerschlagspitze ausgezogen ist, werden 0,75 g CuO (60 mesh) und 0,25 g reduziertes Cu (60 mesh) gegeben. Dann wägt man 1—10 mg der zu untersuchenden organischen Substanz in einem Porzellanschiffchen oder einer zugeschmolzenen kleinen Glasampulle ein, zieht das

[1] Analyt. Chemistry **27**, 467—468 (1955). Inst. of Technol., Cambridge, Mass.
[2] Science (Lancaster, Pa.) **120**, 494—496 (1954). Argonne Nation. Lab. Lemont, Ill.

Verbrennungsrohr aus, evakuiert es und schmilzt es ab. (Abb. 1 ganz rechts.) Durch Schütteln zerbricht man die Substanzampulle, vermischt CuO und Cu gut mit der Substanz und erhitzt das ganze Rohr in waagrechter Lage 30 min auf 640 ± 10° C. Nach dem Abkühlen wird das Verbrennungsrohr *A* in das Zertrümmerungsrohr *B* der Analyseapparatur (Abb. 1 links) eingeschoben, die Apparatur evakuiert und *A* durch Schwenken von *B* um den Schliff *S* zertrümmert. Die Verbrennungsprodukte kondensiert man bei — 195° C im Rohr *D*, entfernt dann das Kältebad und destilliert nach *E* und *F*. Das Rohr *E* wird mittels einer Kältemischung (Flüss. N_2 + Toluol oder Di-n-Butyläther) auf — 95° C gehalten, *F* kühlt man auf — 195° C ab. H_2O und schwerflüchtige Verbrennungsprodukte sammeln sich in *E*, CO_2 in *F*. Das CO_2 expandiert man in das Manometer auf ein geeichtes Volumen und mißt seine Menge manometrisch, wenn der Gesamtkohlenstoffgehalt der Probe bestimmt werden soll. Zur Messung der Radioaktivität expandiert man das CO_2 in die Ionisationskammer *C*, verdünnt mit Bomben-CO_2 auf Atmosphärendruck und bestimmt den Ionisationsstrom mit einem Schwingzeigerelektrometer. Das in *E* kondensierte H_2O ist nicht für die Tritium- oder Wasserstoffbestimmung verwendbar, da erhebliche Mengen H_2O im Verbrennungsrohr zurückgehalten werden. Eine Tritiumbestimmung nach der Zinkschmelzmethode von K. E. Wilzbach, L. Kaplan und W. G. Brown[1] ist jedoch möglich, wenn die Ionisationskammer auf den Stutzen *H* aufgesetzt wird. — Die Gesamtkohlenstoffbestimmung an 25 organischen Substanzen ergab 100,67 ± 0,30% der berechneten Werte, die ^{14}C-Bestimmung an 6 Substanzen 100,60 ± 1,1% der nach der Pregl-Methode erhaltenen Zahlen.

Zur gleichzeitigen Bestimmung von Gesamtkohlenstoff und ^{14}C-Aktivität in organischen Substanzen ist das Mikroverbrennungsverfahren von Pregl wenig geeignet, weil im Verbrennungsrohr eine gewisse Aktivität zurückbleibt, die bei der nächsten Analyse störend wirkt. J. D. Gabourel, M. J. Baker und Ch. W. Koch[2] geben nun eine Rohrfüllung (siehe Abb. 2) an, die diesen Übelstand nicht

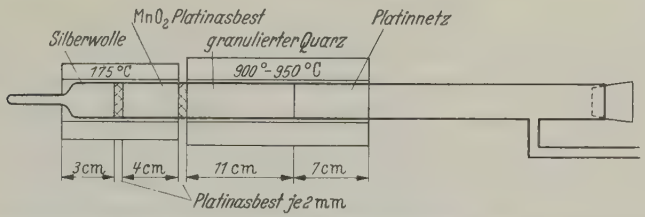


Abb. 2. Verbrennungsrohrfüllung für Kohlenstoff-Wasserstoff-Bestimmung, nach Gabourel u. Mitarb.

besitzt. Der granulierte Quarz (30—50 mesh ≅ 12—20 DIN) wird vor Gebrauch mit heißer Chromschwefelsäure behandelt, dann mit Wasser gewaschen und getrocknet. Das Platinnetz behandelt man mit heißer konz. Salpetersäure. Die anderen Materialien sind reinste Handelswaren. MnO_2 kann auch nach R. Belcher und G. Ingram[3] hergestellt werden. Man verbrennt in üblicher Weise Einwaagen von 3—30 mg. Der bewegliche Verbrennungsofen wird zunächst auf 300—500° C aufgeheizt und mit einer Geschwindigkeit von < 6 mm/min über das Probeschiffchen geschoben. Anschließend, wenn die Probe verkohlt ist, heizt man den beweglichen Ofen auf 850° C auf und schiebt ihn mit einer Geschwindigkeit von 16 mm/min

[1] Science (Lancaster, Pa.) **118**, 522 (1953).
[2] Analyt. Chemistry **27**, 795—797 (1955). Univ. Davis und Berkeley, Calif. (USA).
[3] Anal. chim. Acta **4**, 118, 401 (1950); vgl. diese Z. **134**, 367, 368 (1951/52).

über die Probe. Es ist möglichst zu vermeiden, daß die Probe verpufft, da dabei Verluste eintreten können. Die O_2-Strömungsgeschwindigkeit hängt von der Einwaage ab; bei 3—6 mg soll sie 4—5 ml/min betragen, bei Proben bis zu 30 mg läßt man sie bis auf 20—25 ml/min ansteigen. Jede Analyse dauert beiläufig 40—45 min.

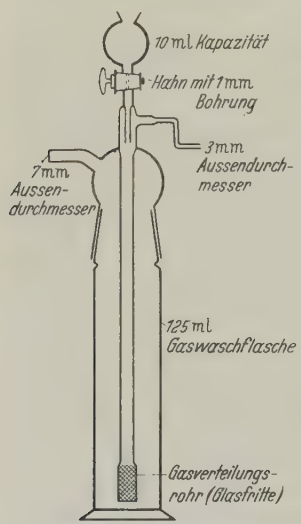


Abb. 3. CO_2-Absorber nach Gabourel u. Mitarb.

Das entwickelte CO_2 wird in dem Absorptionsgefäß (Abb. 3) in 10 ml carbonatfreier 0,4 m Natronlauge aufgefangen, der man soviel Wasser zugibt, daß die Waschflasche zu $^3/_4$ gefüllt ist. Der Tropftrichter wird mit dest. Wasser gefüllt, das später zum Nachwaschen der Fritte dient. Ist die Verbrennung beendet, so wird das Absorptionsgefäß abgenommen, der Schliff gelöst und der Aufsatz ausgespült. Nunmehr fügt man unter Durchleiten von gereinigtem Stickstoff oder CO_2-freier Luft 3 ml 1 m $BaCl_2$-Lösung und 3 Tr. 0,25%ige Phenolphthaleinlösung zu der Lösung und titriert mit 0,42 m Salzsäure. Die Titration muß langsam erfolgen, da sonst durch örtlichen Säureüberschuß CO_2 entbunden werden kann. Nach beendeter Titration macht man die Lösung schwach alkalisch (Rosafärbung) und filtriert das ausgefallene $Ba^{14}CO_3$ ab, das in üblicher Weise zu wägen und zu messen ist, wobei die Selbstabsorption beachtet werden muß. Das Verfahren wird an einer Reihe markierter Verbindungen geprüft; die Abweichungen der Gesamtkohlenstoffbestimmung liegen durchweg unter $\pm$ 1%; die Aktivitätsbestimmung zeigt, daß keine Aktivität von einer zur nächsten Analyse übertragen wird.

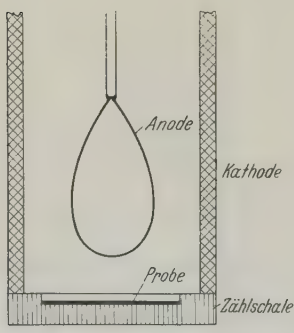


Abb. 4. Fensterloser Gasströmungs-Proportionalzähler

Korrekturfaktoren, die es gestatten, die Aktivität einer mit ^{14}C markierten organischen Verbindung auf diejenige von $Ba^{14}CO_3$ bestimmter Schichtdicke umzurechnen, werden von M. L. Karnovsky, J. M. Foster, L. I. Gidez, D. D. Hagerman, C. V. Robinson, A. K. Solomon und C. A. Villee[1] gemessen. Untersucht werden: Glucose (gemessen als Phenylosazon), Brenztraubensäure (als 2,4-Dinitrophenylhydrazon), Glycerin und Trioleïn (als Formaldimedon) sowie Gesamtlipoid aus Rattenleber (als solches). Gearbeitet wird in der Weise, daß ein aliquoter Teil der zu untersuchenden Substanz in üblicher Weise verbrannt, in $Ba^{14}CO_3$ übergeführt und unter Variation der Schichtdicke gemessen wird, während ein anderer aliquoter Teil der gleichen Substanz in ein zur Messung geeignetes Derivat umgewandelt wird, das man dann ebenfalls unter Variation der Schichtdicke mißt. Gemessen wird in beiden Fällen unter Verwendung des gleichen fensterlosen Gasströmungszählers (Abb. 4). Die als Funktion der Schichtdicke erhaltenen Impulszahlen lassen sich durch Kurven der Form $N = N_\infty (1 - e^{-\alpha m})$ darstellen, wobei N = Impulszahl beim Probengewicht m, N_∞ = Impulszahl bei der Schichtdicke ∞ und α =

[1] Analyt. Chemistry **27**, 852—854 (1955). Harvard Med. School, Boston, Mass.

0,322 cm²/mg ist. Die gesuchten Korrekturfaktoren ergeben sich dann als die Verhältnisse N ($Ba^{14}CO_3$) : N (gemessenes Derivat) bei gleicher Molzahl Kohlenstoff in beiden Fällen. Folgende Korrekturfaktoren werden gefunden: Glucose-Phenylosazon (Glucosazon): 1,02 ± 0,4; Brenztraubensäure-2,4-Dinitrophenylhydrazon: 0,94 ± 0,02; Formaldimedon aus Glycerin: 1,05 ± 0,03 bzw. 1,08 ± 0,03; Triolein (direkt gemessen): 1,09 ± 0,03. Im Bereich kleiner Schichtdicken (0,06 . . . 4,4 mg/cm²) stimmen die Werte der organischen Substanzen gut mit den $Ba^{14}CO_3$-Werten überein; bei größeren Schichtdicken treten Abweichungen auf, die durch die gemessenen Faktoren korrigiert werden müssen. Die gefundenen Faktoren liegen wesentlich niedriger als die älteren Literaturwerte, die sich um 1,3 herum bewegen.

Dis Selbstabsorptionskorrektur bei der ^{14}C-Zählung wird ausführlich von E. K. Gora und F. C. Hickey[1] diskutiert und eine Gleichung für die relative spez. Aktivität als Funktion der Zählgeometrie, des Massenabsorptionskoeffizienten K und der Präparatendicke x (in Masse für dem Zähler exponierte Fläche) abgeleitet. Die theoretischen Überlegungen werden mit Hilfe von biologisch markiertem Cholesterin-^{14}C auf Al-Präparatenträgern nachgeprüft. Es ergibt sich befriedigende Übereinstimmung mit dem Experiment, auch wenn Rückstreuung und Selbstabsorption vernachlässigt werden. F. Weigel

Eine einfache Presse wird von W. W. Burr jr. und J. A. Marcia[2] beschrieben, die zur Herstellung gleichartiger Preßlinge dienen soll, die ^{14}C-markiertes $BaCO_3$ enthalten, das zur CO_2-Bestimmung dient. A. Kurtenacker

Zur mikroanalytischen Bestimmung von Stickstoff in organischen Substanzen benutzt W. Schöniger[3] den bereits früher von ihm zur Bestimmung von Schwefel und Halogen[4] entwickelten Aufschluß mit Magnesium. In einem Aufschlußröhrchen aus Jenaer Geräteglas 20 von 6 mm lichter Weite und 80 bis 100 mm Länge überschichtet man 3—5 mg Substanzeinwaage mit einer 3—4 mm hohen Schicht von Magnesiumpulver (bei zu heftig reagierenden Substanzen verdünnt man das Mg mit MgO), mischt durch und fügt weiter Magnesiumpulver bis etwa 40 mm Höhe dazu. Um den Luftstickstoff zu verdrängen, füllt man zweimal mit gepulvertem Trockeneis auf. Das Aufschlußröhrchen zieht man oben zu einer 80—100 mm langen, nicht zu dünnen Capillare aus. Wenn alles Kohlendioxyd verdampft ist, schmelzt man die Capillare zu. Kurz vor dem Aufschluß schneidet man die Spitze der Capillare ab und setzt das Röhrchen in die in Abb. 1 gezeigte Anordnung, welche von Kohlendioxyd durchströmt ist. Unter stetem Drehen erhitzt man zunächst das obere Ende der Magnesiumschicht mit einem Bunsen-Brenner zur Rotglut und nähert die Flamme innerhalb 5 min dem Boden des Röhrchens. Nach beendetem Aufschluß schmelzt man die Capillare wieder zu. An zwei Stellen ritzt man das Röhrchen mit einem Glasmesser an und sprengt es mit einem glühenden

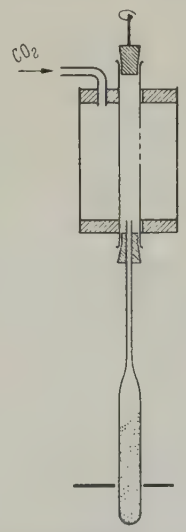


Abb. 1. Apparative Anordnung zur Stickstoffbestimmung nach Schöniger

[1] Analyt. Chemistry **26**, 1158—1161 (1954). Providence College, Providence R. I.
[2] Analyt. Chemistry **27**, 571 (1955). Univ. Dallas, Tex. (USA).
[3] Mikrochim. Acta (Wien) **1955**, 44—48. Sandoz A.-G., Basel (Schweiz).
[4] Schöniger, W., Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 74; vgl. diese Z. **145**, 360 (1955).

Glastropfen, ohne daß die Teile auseinanderfallen. In einem Erlenmeyer-Kolben überschichtet man es mit Wasser, fügt 2 ml Schwefelsäure (1 : 3) hinzu und läßt durch Schütteln das Röhrchen zerfallen. Nach dem Auflösen des Magnesiums kocht man etwa vorhandenen Schwefelwasserstoff aus, überführt nach dem Abkühlen in einen Destillationsapparat und bestimmt den Stickstoff wie nach einem KJELDAHL-Aufschluß. — In demselben Aufschluß kann man vor dem Stickstoff den Schwefel und das Halogen wie früher angegeben bestimmen[2]. F. NEUMANN

Bei der Mikrostickstoffbestimmung nach DUMAS kann das erforderliche Kohlendioxyd nach Mitteilung von M. FUKUDA[1] mit Vorteil durch Pyrolyse von Natriumhydrogencarbonat gewonnen werden. Zwei Nachteile dieser Methode sind jedoch zu beachten: Die Regulierung des CO_2-Stromes ist schwierig und die Lebensdauer des Natriumhydrogencarbonats in der Hitze ist kurz. Diese Nachteile umgeht Verf. durch Anbringen eines druckregulierenden Stopfens, der den CO_2-Strom regelt und durch die Konstruktion eines einfachen CO_2-Generators, der bei einer Menge von 45 g $NaHCO_3$ eine CO_2-Entwicklung von über 9 Std gestattet (Abbildungen im Original). H.-F. KURANDT

Zur Mikrobestimmung von Stickstoff, Schwefel, Chlor und Brom in organischen Stoffen beschreibt M. VEČEŘA[2] erprobte Verfahren. Zur Stickstoffbestimmung[3] benutzt Verf. die Methode von DUMAS-ZIMMERMANN und die von ihm konstruierte automatische Apparatur. Zur Bestimmung des Schwefels[4] dient eine Abänderung des Verfahrens von ZINNEKE und für die Chlor- und Brombestimmung[5] wird eine modifizierte Methode von PREGL-DENNSTEDT verwendet. Die Titration der erhaltenen Halogenidlösungen erfolgt mercurimetrisch. Zum letztgenannten Verfahren wurde der Einfluß der kleinen, bei der Analyse vorkommenden Aciditätsänderungen auf den Titrationsverlauf untersucht und festgestellt, daß praktisch keine Störung verursacht wird. Die Brauchbarkeit der empfohlenen Methoden wird durch die Untersuchungsergebnisse verschiedenster Substanzen bewiesen. F. SCHÄRTL

Bestimmung von Sauerstoff. A. LACOURT[6] teilt im Rahmen einer Diskussion ihre Erfahrungen mit der *titrimetrischen Sauerstoffbestimmung nach* J. UNTERZAUCHER mit. Der vorschriftsgemäß gereinigte Stickstoff ist frei von nachweisbarem Sauerstoff. Statt Schwefelsäure empfiehlt sich die Verwendung von Paraffinöl im Strömungsmesser, um durch Schwefeldioxyd bedingte Blindfehler auszuschalten. Der Ruß soll vor Benutzung entsprechend der Angabe von UNTERZAUCHER erhitzt werden, um etwaige Schwefelspuren zu entfernen. Die Konstanz der Temperatur während der Analyse ist wichtiger als das genaue Einhalten des Temperaturbereichs von 1115—1150° C. DEGUSSA-Ruß wird mit Salzsäure behandelt, getrocknet, gesiebt und 48 Std auf 110° C erhitzt. Kontakte zwischen Quarz und Metall sind möglichst zu vermeiden. Die Rohrwände sollen wenigstens 1,5 mm dick sein, da nur diese sich mit einem schützenden Überzug bedecken, ohne zu brechen. Vor Gebrauch behandelt man das Quarzrohr 5 Std lang mit Flußsäure und erhitzt dann im Gebläse auf Rotglut. Jodpentoxyd rekristallisiert, von Bayer, Leverkusen, verändert sich auch im direkten Sonnenlicht nicht und gibt daher brauchbare Werte. Wenn die

[1] J. pharmac. Soc. Japan **75**, 151—153 (1955) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Univ. Osaka (Japan).

[2] Mikrochim. Acta (Wien) **1955**, 88—100. VÚOS, Pardubice-Rybitví (ČSR).

[3] VEČEŘA, M.: Chem. Listy **47**, 1090 (1953); vgl. diese Z. **146**, 37 (1955).

[4] VEČEŘA, M.: Chem. Listy **48**, 613 (1954); vgl. diese Z. **145**, 357 (1955).

[5] JUREČEK, M., und M. VEČEŘA: Chem. Listy **46**, 620 (1952); vgl. diese Z. **140**, 302 (1953).

[6] Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 735—737. Univ. Brüssel.

Rußpackung an beiden Enden ungenügend fest ist, so erhält man zu niedrige Werte. Grobe Quarzfaser ist Kieselsäurewolle vorzuziehen. Substanzen mit hohem Chlorgehalt können infolge Reduktion von Quarz einen hohen Blindwert ergeben. In solchen Fällen vermindert Flußsäurebehandlung des Quarzrohres den Blindwert wieder. Organische Substanzen mit geringem Sauerstoffgehalt führen zu merklichen Blindwerten wegen der Wechselwirkung zwischen überschüssigem Wasserstoff und Jodpentoxyd. In Kohlenwasserstoffen (z. B. in Anthracen) ist der Nachweis von weniger als 0,1% Sauerstoff daher unmöglich. Auch gepulverter Quarz gibt beim Erhitzen Wasser ab und besitzt so einen merklichen Blindwert. Ähnliches gilt von anderen Gase adsorbierenden Stoffen.

Die Ursachen des Blindwertes bei der Sauerstoffbestimmung nach Unterzaucher erörtern L. J. Moelants und W. Wesenbeek[1]. Die Art des Apparates (Apparat eigener Herstellung oder automatischer Apparat von Heraeus) sowie der Stickstoff üblicher Reinheit haben keinen Einfluß auf den Blindwert. Ebensowenig konnte eine Verbesserung erzielt werden durch Ersatz von Merckschem Jodpentoxyd durch das nach J. Unterzaucher hergestellte Präparat. Dagegen sind die Güte des Quarzverbrennungsrohrs und die Temperaturkonstanz des Kohlekontaktofens wesentlich für die Blindwertherabsetzung. Auch der Ruß beeinflußt die Höhe des Blindwerts. Es wurde beobachtet, daß während der Analysen schmutzigbraune Vercrackungsprodukte aus dem Ruß abdestillieren und sich an den kühleren Teilen der Apparatur niederschlagen. Das kann die Bestimmung stören. Zur Reinigung des Rußes empfehlen die Verff. 3—4maliges Waschen mit Alkohol und nachher mit dest. Wasser. Man filtriert und kocht den Ruß 30 min mit 1 : 1 verdünnter Salzsäure. Nach dem Abkühlen dekantiert man die Salzsäure ab, wäscht den Rückstand 3—4mal mit dest. Wasser, filtriert, wäscht nochmals mit dest. Wasser und anschließend mit Alkohol. Dann preßt man den Ruß sorgfältig ab, saugt 30 min mit der Wasserstrahlpumpe ab und trocknet bei 120° C. Man schneidet dann den Ruß in Teilchen von Weizenkorngröße, gibt diese Körnchen in das Verbrennungsrohr und erhitzt 8 Std auf 900° C im Stickstoffstrom. Das Auftreten hoher Blindwerte ist offenbar verursacht von der Luftadsorption am Platinschiffchen beim Ausglühen und Abkühlen.

H. Freytag

L. Mázor[2] verwendet ein wenig abgeändertes Verfahren nach Schütze und Unterzaucher zur *unmittelbaren Bestimmung des Sauerstoffgehaltes* organischer Verbindungen. Der durch freigesetztes Jod verursachte Fehler bei sauerstofffreien Verbindungen oder bei Blindversuchen wird erörtert. J. Plank

Die acidimetrische Mikrobestimmung des Schwefels in organischen Verbindungen, welche Alkalien oder Erdalkalien enthalten, ist durch Bildung glühbeständiger Sulfate fehlerhaft. Nach A. A. Sirotenko[3] kann man auch den restlichen Schwefel als SO_3 in die Absorptionsvorlage übertreiben, wenn man nach der üblichen Verbrennung der Substanz den Aschenrückstand mit der 3—4fachen Menge Borsäureanhydrid noch einmal glüht. Zweckmäßigerweise nimmt man sowohl die Verbrennung als auch das Nachglühen in einem Strom von feuchtem Sauerstoff vor. Vollständige Verbrennung des Schwefels zu seinen Sauerstoffverbindungen sichert eine Rolle von feinem (52 mesh) Platindrahtnetz (12 × 18 cm). F. Neumann

---

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 738—742. N. V. Gevaert Photo-Prod. (Belgien).

[2] Magyar Kémikusok Lapja **10**, 77—81 (1955) [Ungarisch]. Techn. Univ., Budapest, Ungarn.

[3] Mikrochim. Acta (Wien) **1955**, 153—154. Columbia Univ., New York (USA).

Einen Beitrag zur Kenntnis des Mikro-Halogennachweises mit der BEILSTEIN-Probe liefert H. JURÁNY[1]. — Auf Grund der Seltenheit des Vorkommens natürlicher, halogenhaltiger organischer Substanzen eignet sich die BEILSTEIN-Probe zum Nachweis einer großen Zahl von Insecticiden, Fungiciden und chemischen Pflanzenschutzmitteln, bei denen andere Identifizierungsreaktionen häufig noch fehlen. Ein positiver Ausfall der Probe läßt daher die Anwesenheit derartiger Stoffe als wahrscheinlich, ihr negativer Ausfall mit Sicherheit deren Abwesenheit erkennen. Zum Zwecke der

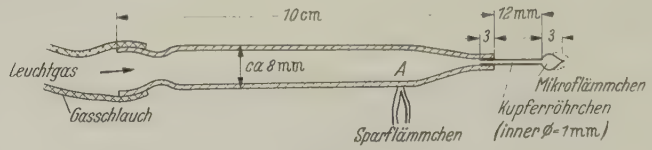


Abb. 1. Gerät zum Halogennachweis nach JURÁNY

Empfindlichkeitssteigerung der Probe unter Berücksichtigung der hohen Flüchtigkeit vieler Substanzen wird ein einfaches Gerät (Abb. 1) entwickelt, das aus einem einseitig verjüngten Glasröhrchen besteht, dessen Spitze durch ein aus Kupferfolie (15 × 15 mm durch Umwickeln einer Stricknadel) hergestelltes Röhrchen verlängert ist und mit dem Glasrohr gasdicht zu verschmelzen ist. Durch das bei *A* mit der zu analysierenden Substanz versehene Röhrchen wird Leuchtgas geleitet, das an der Austrittsstelle eine Mikroflamme bildet. Zur Durchführung der Reaktion wird die Substanz mit der Sparflamme eines Brenners erhitzt. Bei Anwesenheit von halogenhaltigen Substanzen erfolgt eine Grünfärbung der Flamme. — Flüssige Substanzen werden in einer vorgeschalteten Waschflasche vom Leuchtgas durchströmt und auf diese Weise mitgerissen, ähnlich verfährt man mit Fetten, Ölen und Mineralölen, die jedoch zuvor mit starker Chromschwefelsäure zersetzt werden müssen. Halogenhaltige Gase werden durch das mit Aktivkohle gefüllte Rohr geleitet und durch Erhitzen im Leuchtgasstrom zum Zwecke des Halogennachweises ausgetrieben.

T. BREYHAN

Verfahren zur Bestimmung der Halogene und des Schwefels in organischen Verbindungen durch Aufschluß mit metallischem Kalium beschreiben M. O. KORŠUN und M. N. ČUMAČENKO[2] im Rahmen ihrer Untersuchungen über Schnellmethoden der Mikroelementaranalyse. Zur gleichzeitigen Bestimmung von Cl, Br, J in organischen Substanzen neben C und H wird in einer geschlossenen Mikrobombe aus Metall mit metallischem Kalium wenige Minuten auf 80—85° C erhitzt. Die Schmelze wird in Wasser aufgelöst und zu einem bestimmten Volumen aufgefüllt, aus dem aliquote Proben entnommen werden. Chlorid und Bromid werden mercurimetrisch, Jodid wird jodometrisch bestimmt. In den organischen Substanzen, die noch N und S enthalten, stören das gebildete KCN und K_2S die titrimetrische Bestimmung. In diesem Falle wird die Probe vor der Titration mit $KMnO_4$ oxydiert und der $KMnO_4$-Überschuß mit H_2O_2 zerstört. Bei der Bestimmung von Halogenen in Hg-enthaltenden organischen Verbindungen wird das Hg in Tropfen quantitativ aus der Schmelze ausgeschieden. Man filtriert es ab, löst in HNO_3, fügt NaCl-Lösung im Überschuß zu und bestimmt Hg durch Rücktitration. Die Halogene werden im Filtrat bestimmt. S-Bestimmungen in organischen Verbindungen durch direkte jodometrische Titration ergaben zu niedrige Werte, was durch Auflösen der Schmelze in 15%iger KOH-Lösung vermieden werden konnte. N und Halogene stören die S-Bestimmung nicht. Die erzielten Resultate lagen innerhalb einer Fehlergrenze von 0,1—0,3%.

MARTHA WILDAU

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1955**, 134—138.

[2] Dokl. Akad. Nauk SSSR, N. S., **99**, 769—771 (1954) [Russisch].

2. Qualitative und quantitative Analyse

Über die Anwendbarkeit der differentiellen Thermoanalyse zur Charakterisierung organischer Substanzen stellten H. Morita und H. M. Rice[1] Untersuchungen an. Das Verfahren besteht darin, daß man die zu untersuchende Substanz mit geglühtem Aluminiumoxyd mischt und dann mit konstanter Geschwindigkeit (z. B. 10° C/min) bis auf etwa 1000° C erhitzt. Die auftretenden exothermen oder endothermen Pyrolysereaktionen werden elektronisch gegen ein hitzebeständiges Vergleichmaterial (geglühtes Aluminiumoxyd) gemessen, so daß die Temperaturdifferenzen zwischen der Probe und dem Vergleichsmaterial als Funktion der Temperatur aufgezeichnet werden. Die Verff. unterwerfen eine Reihe organischer Substanzen, und zwar hauptsächlich Hochpolymere diesem Untersuchungsverfahren. Es ergeben sich für jede Substanz charakteristische Thermogramme, die sehr deutlich den Einfluß der Zusammensetzung, der Art der Bindungen usw. erkennen lassen; Cellulose ist z. B. durch eine endotherme Reaktion bei 340° C und ein exothermes Maximum bei 655° C gekennzeichnet, während die exothermen Maxima der Bausteine der Cellulose, Cellobiose und Glucose, bei 570—580° C liegen. Entsprechende Beobachtungen ergeben sich für Cellulosederivate (Cellulosetriacetat usw.), Stärke und ihre Abbauprodukte, Polypeptide, Polyvinylderivate sowie Polyacrylate. Bemerkenswert ist, daß bei den letzten noch bei 1000° C eine starke exotherme Reaktion auftritt. Die Thermogramme sind bei Gleichhaltung der Versuchsbedingungen, besonders der Erhitzungsgeschwindigkeit, gut reproduzierbar. Mit zunehmender Erhitzungsgeschwindigkeit werden die Effekte zu höheren Temperaturen verschoben. Die Thermoanalyse wird nach Meinung der Verff. bei unlöslichen und amorphen Stoffen, die keine brauchbaren Röntgen- oder Ultrarotspektren geben, mit Vorteil angewandt werden können. — *Experimentelles.* Der Probenhalter besteht aus einem rechteckigen Metallblock (Palladium — rostfreier Stahl), in den zwei kreisrunde Öffnungen (Inhalt 0,4 ml) zur Aufnahme der Proben gebohrt sind. In die eine Öffnung kommt wasserfreies Al_2O_3 als Vergleichssubstanz, in die andere die zu untersuchende organische Verbindung (etwa 150 mg), gemischt mit Al_2O_3 und mit einem Druck von etwa 15 Atm zusammengepreßt. Die Temperaturdifferenz zwischen diesen beiden Proben wird mittels Thermoelementen in passender Schaltung gemessen und gegen die Gesamttemperatur in einem Diagramm aufgetragen. Für die Analyse von Flüssigkeiten und Lösungen wird zunächst Al_2O_3 so in die Öffnung des Metallblocks gegeben, daß der Draht des Thermoelementes bedeckt ist. Dann wird 0,15 ml Flüssigkeit hinzugefügt, schließlich wieder Al_2O_3 hinzugegeben und wie vorher gepreßt. Der Probenhalter wird in die Mitte eines Ofens gestellt, durch welchen Stickstoff geleitet wird. Für die meisten Bestimmungen wird mit einer Geschwindigkeit von 10° C/min bis zu einer Temperatur von 1000° C erhitzt. H.-F. Kurandt

Die Bestimmung von Hydroxyl- und Aminoverbindungen mittels einer Chlor-36-Isotopenverdünnungsmethode beschreibt P. Sorensen[2]. Das Verfahren ist auf die Analyse von Hydroxylverbindungen (Alkoholen, Phenolen) und von Aminoverbindungen (Anilinderivaten, aliphatischen Aminen) anwendbar. Es beruht darauf, daß die zu untersuchende Verbindung mit 3-Chlor-Anisoylchlorid zum entsprechenden 3-Chlor-Anisoylderivat umgesetzt wird. Dies versetzt man mit dem gleichen 3-Chlor(36)-Anisoylderivat bekannter spezifischer ^{36}Cl-Aktivität und verfährt dann nach den üblichen Methoden der radiochemischen Verdünnungsanalyse. — *Arbeitsvorschrift.* a) Standardprobe: 200 mg vom 3-Chlor-Anisoylderivat der zu

[1] Analyt. Chemistry **27**, 336—339 (1955). Dept. Agric., Ottawa, Ontario (Can.).
[2] Analyt. Chemistry **27**, 388—390 (1955). Sadolin & Holmblad, Ltd., Kopenhagen.

analysierenden Probe werden mit 1,5 ml einer Lösung versetzt, die eine 0,7 μC entsprechende Menge des 3-Chlor(36)-Anisoylderivates der zu untersuchenden Probe in 100 ml Dioxan enthält. Man fügt dann soviel Dioxan zu, daß beim Aufkochen eine klare Lösung entsteht. Diese wird in Wasser gegossen, das ausfallende Produkt auskristallisiert und seine spezifische Aktivität bestimmt. — b) Analyse: In ein Reagensglas wägt man ungefähr 1 mval der zu analysierenden Substanz ein, gibt 3 ml Pyridin und 0,8 g 3-Chlor-Anisoylchlorid zu und schüttelt um, bis dieses sich gelöst hat. Ist eine Hydroxylverbindung zu analysieren, so ist 20 min am Rückfluß zu kochen; im Fall einer Aminoverbindung läßt man ½ Std bei Zimmertemperatur stehen. Dann fügt man 3 ml Äthanol zu und kocht kurz auf. Anschließend werden 1,5 ml der aktiven Lösung (vgl. oben) am besten aus der Wägebürette zugegeben, bis zur klaren Lösung erhitzt und dann in 100 ml Wasser eingegossen. Die ausfallenden Kristalle sind abzufiltrieren, erst mit Wasser und zum Schluß mit 2 ml Methanol zu waschen. Man kristallisiert aus einem geeigneten Lösungsmittel um, bis der Schmelzpunkt sich um $< 1°$ C von dem des reinen 3-Chlor-Anisoylderivats unterscheidet. Alsdann mißt man die spezifische Aktivität im Verhältnis zu derjenigen des Standardpräparates. Die Berechnung erfolgt nach der Formel: $B = [1/r \times A/a \times b + Ay \times (1 - r)/r] \times P/100$ und mg der Verbindung $= \frac{\text{Molekulargewicht der Verbindung} \times B}{\text{Molekulargewicht des Chlor-Anysoilderivates}}$. Hierbei ist $r = \frac{\text{spezif. Aktivität Analysenprobe}}{\text{spezif. Aktivität Standardprobe}}$, A = Milligramm zugefügte aktive Lösung, B = Milligramm 3-Chlor-Anisoylderivat, das durch Reaktion mit dem 3-Chlor-Anisoylchlorid in der Lösung der Analysensubstanz gebildet wurde, a = Milligramm aktive Lösung, die zur Herstellung des Standards benutzt wurde, b = Milligramm 3-Chlor-Anisoylderivat, das bei der Herstellung des Standards verwendet wurde, y = Milligramm 3-Chlor-Anisoylderivat je Milligramm aktiver Lösung, P = Prozent Reinheit des Endpräparates. — Das Verfahren wurde mit sehr gutem Erfolg auf die Analyse von Phenol, Brenzcatechin, Methanol, Äthylenglykol, Äthylendiamin und Anilin angewendet. F. Weigel

Die Reproduzierbarkeit der Herstellung und Messung fester, mit ^{36}Cl indizierter Präparate beschreibt P. Sorensen[1]. Gemessen werden 4-Chlor-2-Methylphenoxyacetanilid (Fp 130° C), 2,4-Dichlorphenoxyacetanilid (Fp 111° C), Methyl-3-Chloranisat (Fp 94° C) und Brenzcatechin-di(3-chloranisat) von drei verschiedenen Personen mit großer, mittlerer und geringer Erfahrung mit Standardgeräten. An Hand tabellierter Ergebnisse wird gezeigt, daß der Einzelbestimmung ein Standardfehler von 0,79% anhaftet, der nur wenig vom statistischen Zählfehler (0,61%) abweicht. F. Weigel

Bei der Methoxylbestimmung geben nach einer Mitteilung von H. Gysel[2] *1,2-Dimethyl-pyraz-dion(3,6) und 1-Phenyl-2-methyl-pyraz-dion(3,6)* einen Wert, der je nach Reaktionsdauer 15, 25 oder 30% Methoxyl entspricht. Dies läßt sich nur so deuten, daß unter den Bedingungen des Zeisel-Verfahrens (siedende Jodwasserstoffsäure) die beiden Verbindungen sich völlig oder teilweise von N-Methyl- zu O-Methylverbindungen umlagern. H. Freytag

Eine Mikroausführung des Apparates von Zerewitinoff zur Bestimmung des aktiven Wasserstoffs beschreiben H. C. Brown und O. Hafliger[3]. Das Gerät (Abb. 1) läßt sich in wenigen Minuten durch Evakuieren trocknen und gestattet das Arbeiten in Methanatmosphäre, wodurch Fehler durch Löslichkeitsänderung des

[1] Analyt. Chemistry **27**, 391—392 (1955). Sadolin & Holmblad, Ltd., Kopenhagen.
[2] Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 743—745. Ciba AG, Basel (Schweiz).
[3] Analyt. Chemistry **26**, 757—759 (1954). Purdue Univ., Lafayette, Ind. (USA).

Methans infolge schwankenden Partialdruckes vermieden werden. Das Reaktionsgefäß *A* (in Abb. 1 vergrößert gezeichnet) von etwa 7,5 ml Inhalt befestigt man im Glasschliff *B*. Der Dreiwegehahn *C* ist mit einem waagerechten Rohrstutzen verbunden, durch den man evakuiert bzw. Methan einfüllt, sowie mit einem vertikalen Rohrstutzen, durch den man mit Hilfe von in 0,01 ml eingeteilter 1- und 2 ml-Injektionsspritzen die Reagentien einführt. Die Nadeln der Spritzen müssen bis zum flachen Boden von *A* durch die Bohrung des geöffneten Hahnes reichen. Die Gasbürette *D* besitzt ein Gesamtvolumen von 5 ml und ist in 0,01 ml eingeteilt. Eine Sinterglasplatte *E* verhindert den Übertritt des Quecksilbers in den anderen Teil der Apparatur beim Evakuieren. — Das benutzte Methan wird durch konzentrierte Schwefelsäure, n-Amyläther und über Calciumhydrid gereinigt. Die Lösung von Methylmagnesiumjodid in n-Amyl-äther standardisiert man im Gerät durch Zersetzung eines abgemessenen Volumens mit überschüssiger Phenollösung im gleichen Lösungsmittel und Messung des freigesetzten Methans. An dem abgelesenen Volumen ist eine Korrektur für die Löslichkeit des Methans im Lösungsmittel anzubringen. Diese Löslichkeit bestimmt man, indem man zuerst die Apparatur evakuiert, dann Methan einströmen läßt, das Reaktionsgefäß in Wasser von 25° C eintaucht und den Bürettenstand abliest. Dann führt man 0,50 ml n-Amyläther in das Reaktionsgefäß ein, rührt magnetisch und liest nach etwa 5 min wieder ab. Die Volumenzunahme ist kleiner als 0,50 ml. Dieser Differenz entspricht dem in 0,50 ml Lösungsmittel gelösten CH_4-Volumen. Zur Durchführung der Bestimmung wägt man die Substanz in das Reaktionsgefäß ein oder führt eine Lösung bekannter Konzentration nach dem Evakuieren und Einleiten von Methan mit der Injektionsspritze durch die Gummikappe des vertikalen Rohrstutzens in das Reaktionsgefäß ein. Man rührt, bis sich das Temperaturgleichgewicht (25° C) eingestellt hat, stellt das Quecksilber auf die Nullmarke und beseitigt den Methanüberschuß durch kurzes Öffnen des Dreiwegehahns. Nun führt man 1,00 ml GRIGNARD-Reagens ein, erwärmt im Falle langsam reagierender Substanzen das Reaktionsgefäß einige Minuten mit heißem Wasser. Nach Abkühlung auf 25° C liest man das Volumen ab, stellt das Quecksilber wieder auf die Nullmarke ein, zersetzt den Reagensüberschuß durch Zugabe von 1,00 ml 2 m Phenollösung in n-Amyläther und bestimmt nach einigen Minuten das Volumen des entwickelten Methans. Die Spuren aktiven Wasserstoffs im Lösungsmittel bestimmt man in Blindversuchen mit diesen allein und dem Reagens, wie für das Standardisieren des Reagenses angegeben. — Den Analysenbelegen ist zu entnehmen, daß die mit dieser Apparatur erhaltenen Werte sehr gut mit den berechneten übereinstimmen.

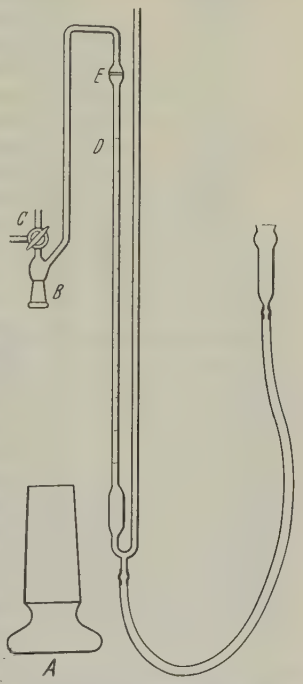


Abb. 1. Mikroausführung des Apparates von ZEREWITINOFF nach BROWN und HAFLIGER

H. FREYTAG

Ein statistischer Vergleich von drei Bestimmungsmethoden für organische Peroxyde wurde von C. RICCIUTI, J. E. COLEMAN und C. O. WILLITS[1] durch-

[1] Analyt. Chemistry **27**, 405–407 (1955). US Dep. Agric., Philadelphia.

geführt. Es handelt sich dabei um die polarographische[1] und die Zinn(II)-chloridmethode[2], sowie um eine Modifikation des WHEELERschen Jodidverfahrens[3]. Untersucht wurden Tetralinhydroperoxyd, Cumolhydroperoxyd und autoxydiertes Methyloleat. Bei reinen Hydroperoxyden ergeben die drei Methoden identische Werte, während bei unreinen Substanzen das polarographische Verfahren niedrigere (und zuverlässigere) Werte liefert als die chemischen Methoden, da diese wahrscheinlich noch Stoffe erfassen, die vermutlich keine Hydroperoxyde und polarographisch nicht reduzierbar sind. Die mit der Zinn(II)-chloridmethode erhaltenen Werte liegen durchschnittlich etwas höher als die der WHEELERschen Jodidmethode. F. SCHÄRTL

Für die Bestimmung kleinster Mengen von Alkoholen in sehr verdünnten Lösungen verwenden A. VON WACEK und F. ZEISLER[4] das Verfahren von W. FISCHER und A. SCHMIDT[5], das auf der Veresterung der Alkohole mit salpetriger Säure zu den leicht flüchtigen Alkylnitriten beruht, die nach Verseifung jodometrisch bestimmt werden. Das bereits von R. SKRABAL[6] verbesserte Verfahren wird von den Verff. so vervollkommnet, daß noch 50 μg Alkohol in sehr verdünnten und verunreinigten Lösungen genau erfaßt werden können. Der Apparat ist in Abb. 1 schematisch wiedergegeben. Der aus der Bombe (1) entnommene Stickstoff wird zur sorgfältigen Befreiung von Sauerstoffspuren und anderen Verunreinigungen durch das mit Kupferoxyd und Silberwolle gefüllte Verbrennungsrohr (2), die mit alkalischer Pyrogallollösung (150 g Pyrogallol in 400 ml 20%iger Natronlauge) beschickte Frittenwaschflasche (3), die Vorschaltflasche (4), das elektrisch erhitzte Rohr mit reduziertem Kupfer (5) und den mit 2—3 g kristallisiertem Pyrogallol gefüllten Wäscher (6) in die eigentliche Bestimmungsapparatur geleitet. Vor Durchführung einer Analyse bzw. vor Bestimmung des Blindwertes be-

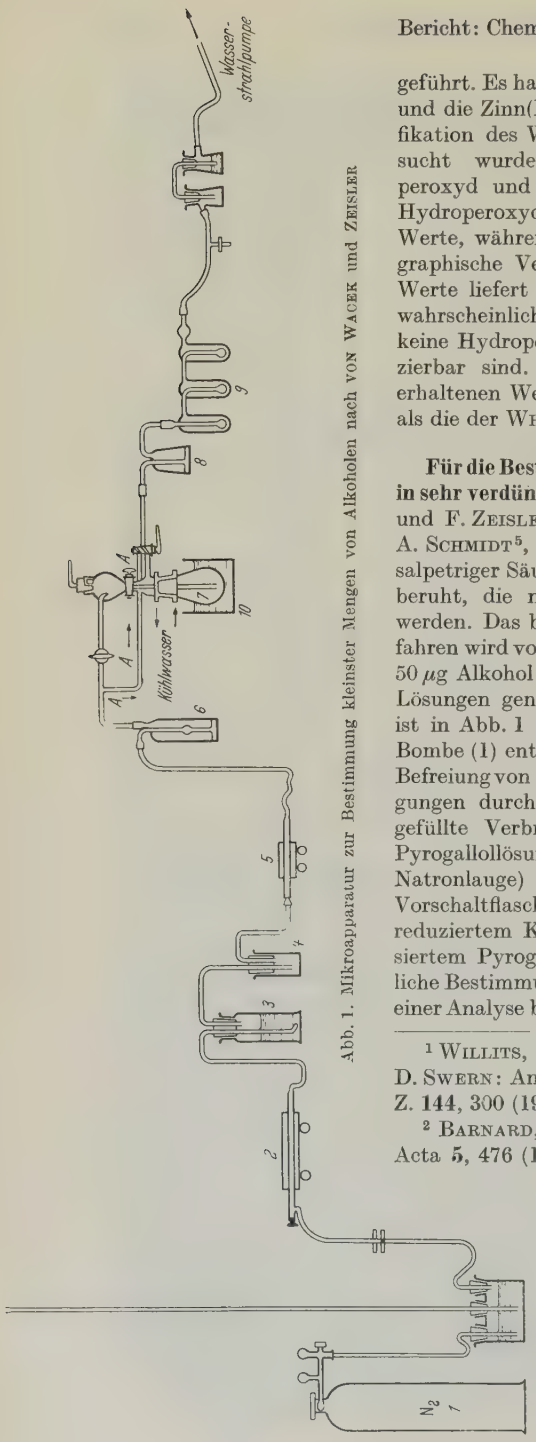


Abb. 1. Mikroapparatur zur Bestimmung kleinster Mengen von Alkoholen nach VON WACEK und ZEISLER

[1] WILLITS, C. O., C. RICCIUTI, H. B. KNIGHT and D. SWERN: Analyt. Chemistry **24**, 785 (1952); vgl. diese Z. **144**, 300 (1955).

[2] BARNARD, D., u. K. R. HARGRAVE: Anal. chim. Acta **5**, 476 (1951); vgl. diese Z. **138**, 146 (1953).

[3] LUNDBERG, W. O., and J. R. CHIPAULT: J. Amer. chem. Soc. **69**, 833 (1947); WHEELER, D. H.: Oil and Soap **9**, 89 (1932).

[4] Mikrochim. Acta (Wien) **1955**, 29—36. Techn. Hochsch. Graz.

[5] Ber. dtsch. chem. Ges. **57**, 693 (1924); **59**, 679 (1926); vgl. diese Z. **72**, 269 (1927).

[6] Diese Z. **119**, 222 (1940).

schickt man den Wäscher (8) mit 1,8 ml gesättigter $NaHCO_3$-Lösung, füllt 1 g Natriumnitrit (bei Alkoholmengen über 1 mg 2 g Nitrit) und 0,5 ml Wasser in das Veresterungsgefäß (7) und verdrängt die Luft aus der Apparatur vollkommen durch Stickstoff. Zur Bestimmung des Blindwertes (bzw. zur Alkoholbestimmung) erhitzt man das Veresterungsgefäß (7) mit Hilfe des Glycerinbades (10) auf 60° C, füllt 0,1 g Kaliumjodid (bei Alkoholmengen über 1 mg etwa 1 g KJ) und 20 ml (22 ml) 0,8 n Schwefelsäure in das Absorptionsgefäß (9) und leitet über den Weg *A* 10 min Stickstoff (2—4 Blasen/sec) durch. Dann läßt man 3 ml Wasser, bei den Bestimmungen die genau gemessene alkoholhaltige Probe, gefolgt von 3 ml über Chrom(VI)-oxyd destilliertem Eisessig in das Veresterungsgefäß laufen und treibt die Gase mit Stickstoff in die Vorlagen. Deren Inhalt wird schließlich mit 0,25 n $Na_2S_2O_3$-Lösung unter Stärkezusatz titriert. Die Resultate sind bei Lösungen von 50 μg Alkohol in der 20000fachen Menge Wasser auf $\pm$ 1 μg, bei 4000—5000 μg Alkohol auf $\pm$ 40—50 μg reproduzierbar. Bei Durchführung der Bestimmungen sind noch manche Einzelheiten zu berücksichtigen, die in der Originalarbeit nachgelesen werden mögen. Th. Breyhan

Bestimmung von Thiolen (Mercaptanen) und Disulfiden durch potentiometrische Titration mit Silbernitrat. Nach R. Cecil[1] können Thiole (reduziertes Glutathion) bestimmt werden, indem man mit überschüssiger Silbernitratlösung versetzt und den unverbrauchten Silberrest mit Kaliumbromidlösung zurücktitriert. Das Verfahren ist auch in Gegenwart von Disulfiden anwendbar, wenn man die Lösung mit Salpetersäure auf p_H 2,0 ansäuert. Die Disulfide selbst werden zur Bestimmung zunächst mit Natriumsulfit zu den Thiolen umgesetzt, die man dann wie angegeben titriert. Das Verfahren gibt gut stimmende Resultate, die aber nach neuen Versuchen von R. Cecil und J. R. McPhee[2] nur durch Fehlerkompensation zustandekommen. Die Verff. empfehlen nun eine neue Arbeitsweise, bei der die Fehler vermieden werden; das Verfahren besteht einfach darin, daß man mit Silbernitratlösung direkt in passend gepufferten Lösungen titriert. Jede zu bestimmende Verbindung erfordert einen besonderen p_H-Bereich, in welchem sie fehlerfrei titriert werden kann. Für die 4 untersuchten Thiole, die in Konzentrationen von etwa 10^{-3} m bis $5 \cdot 10^{-5}$ m vorliegen, gelten folgende p_H-Bereiche: *β-Mercaptopropionsäure* (p_H 1,5 bis 4,5); *Reduziertes Glutathion* (p_H 1,8—2,2); *Cystein* (p_H 2,5—7,5); *Homocystein* (p_H 3,0—9,0). Die Titrationen können bei $p_H < 2{,}5$ an der Silberelektrode vorgenommen werden, bei $p_H > 2{,}5$ spricht diese wegen zu kleiner Ag^+-Ionenkonzentration nicht mehr reproduzierbar an. Dann kommt eine von R. Cecil[3] beschriebene

Tabelle 1. *Bestimmung der Disulfide.* Die Umsetzung mit Na_2SO_3 erfolgt für 4 und 6 bei 60° C, für die anderen bei Raumtemperatur

Nr.	Substarz	Umsetzung mit Na_2SO_3			$AgNO_3$-Titration
		Mole Na_2SO_3 je Mol RSSR	p_H	Reaktionsdauer min	p_H-Wert
1	Cystin	15—25	6,5—7,0	0	6,5—7,0
2	Homocystin	15—25	6,5—7,0	0	6,5—7,0
3	Diacetylcystinester	15—25	6,5—7,0	0	6,5—7,0
4	Diformylcystin	25—30	7,0—7,5	15	7,0—7,5
5	Oxydiertes Glutathion	15—25	6,5—7,0	30	1,8—2,2
6	Dithiopropionsäure	50—60	7,5—8,0	30	1,8—2,2

[1] Biochemic. J. **47**, 572—584 (1950). Univ. Oxford (England).
[2] Biochemic. J. **59**, 234—240 (1955).
[3] Biochemic. J. **58**, 111 (1954).

Silberthiolelektrode zur Anwendung. Zur *Bestimmung von Disulfiden* werden diese zunächst mit Natriumsulfit unter Bildung von 1 Äquiv. des entsprechenden Thiols umgesetzt, das dann mit $AgNO_3$-Lösung titriert wird. Für die 6 untersuchten Disulfide sind die näheren Bedingungen für die Umsetzung mit Na_2SO_3 und für die Titration mit $AgNO_3$-Lösung in Tab. 1 zusammengestellt.

Die Stoffe 1—4 können also nach Umsetzung mit Na_2SO_3 unmittelbar mit $AgNO_3$-Lösung titriert werden, bei 5 und 6 ist Ansäuern vor der Titration notwendig. — *Ausführung.* Es findet die bei potentiometrischen Titrationen übliche Apparatur Anwendung. Als Bezugselektrode wird ein Ag/AgCl-Halbelement angewendet. Die Silber-Indicatorelektrode wird erhalten, indem man einen in ein Glasrohr eingeschmolzenen Platindraht zunächst vergoldet (um das Pt vor der Einwirkung der Mercaptoverbindungen zu schützen) und dann versilbert. Zur Herstellung der Silberthiolelektrode taucht man die Silberelektrode 10—60 sec lang in 0,01—0,005 m wäßrige H_2S-Lösung ein, die man zweckmäßig mit etwas CO_2-haltigem Wasser mischt. Die so vorbereitete Elektrode taucht man dreimal in 10^{-3} bis 10^{-4} m Mercaptolösungen ein, die mit $Na_2B_4O_7$ auf p_H 9 gepuffert sind. Falls Mercaptoverbindungen nicht frei vorliegen, nimmt man ein Disulfid-Sulfitgemisch. Die zu untersuchenden Mercaptane löst man in entgastem Wasser und bewahrt sie bei 2° C auf. Cystin und Homocystin löst man in 0,01 n Schwefelsäure, andere Disulfide in Wasser. Die Reaktion der Disulfide mit Natriumsulfit führt man entweder bei Raumtemperatur oder bei 60 $\pm$ 5° C aus. Bei 60° C ist die Oxydationsgeschwindigkeit schon groß, weshalb man die Gefäße zunächst mit sauerstofffreiem Stickstoff ausspült und dann evakuiert. Zur Titration mit Silbernitratlösung versetzt man 1 oder 2 ml der Probelösungen mit Pufferlösung (Phosphat, Borat, Acetat), deren Konzentration 0,05 m nicht überschreiten soll. Für $p_H > 5$ wird der Puffer 0,05 m KH_2PO_4 — 0,05 m K_2HPO_4 — $2 \cdot 10^{-3}$ m Komplexon III angewendet. Die Titration erfolgt mit 0,1 n Silbernitratlösung. Die 0,1 m Natriumsulfitlösung enthält $2 \cdot 10^{-3}$ Mole Äthylendiamintetraessigsäure. Der graphisch ermittelte Äquivalenzpunkt der Titrationskurven ist auf $\pm$ 0,05 μl 0,1 n Silbernitratlösung reproduzierbar. H. Freytag

Zur spektralphotometrischen Bestimmung von Dialkylsulfiden (RSR') eignet sich nach S. H. Hastings und B. H. Johnson[1] das ausgeprägte UV-Absorptionsmaximum (310 mμ) des Komplexes R'SR · J_2, der sich leicht aus molekularem Jod und aliphatischen Sulfiden bildet. Sein Bildungsgleichgewicht $R'SR + J_2 \rightleftharpoons R'SR \cdot J_2$ ist stark temperatur- und konzentrationsabhängig, wird aber entgegen einer früheren Annahme von S. H. Hastings[2] nicht vom Licht beeinflußt. Tiefe Temperaturen begünstigen die Komplexbildung. Der scheinbare Extinktionskoeffizient für das Absorptionsmaximum bei 310 mμ beträgt bei 79° F (= 26,1° C) 372 [l · g^{-1} · cm^{-1}], sein Temperaturkoeffizient ist — 13 [l · g^{-1} · cm^{-1}/° F] entspr. — 23,4 [l · g^{-1} · cm^{-1}/° C]. Die Konzentrationsabhängigkeit des Komplexgleichgewichtes wird bei großem Jodüberschuß unerheblich. In diesem Falle gilt mit guter Näherung

$$K = \frac{[R'SR \cdot J_2]}{[J_2] \cdot ([R'SR]_0 - [R'SR \cdot J_2])},$$

bzw.

$$[R'SR]_0 = ([R'SR \cdot J_2]\,(1/K \cdot [J_2] + 1), \quad \text{worin} \quad [R'SR]_0$$

die ursprünglich vorhandene Sulfidkonzentration ist. Man erhält also mit $[J_2] \gg [R'SR]_0$ eine lineare Beziehung zwischen der Komplexkonzentration bzw. der gemessenen Extinktion und der eingesetzten Sulfidkonzentration. — *Arbeitsweise.*

[1] Analyt. Chemistry **27**, 564—565 (1955). Humble Oil, Refining Co., Baytown, Tex.
[2] Analyt. Chemistry **25**, 420 (1953); vgl. diese Z. **146**, 221 (1955).

1 ml der hinreichend mit Isooktan (2,2,2-Trimethylpentan) verdünnten Probe füllt man mit 0,1%iger Jodlösung in Isooktan auf 10 ml auf und mißt nach Einstellung des Temperaturgleichgewichtes (ungefähr 10 min) bei 310 mμ gegen eine Blindprobe. In Proben mit geringem Gesamtschwefelgehalt bestimmt man den Sulfidschwefel, indem man zur Herstellung der Blindlösung eine Probe verwendet, aus welcher die Sulfide mit festem Quecksilber(I)-nitrat entfernt wurden.

Das oben beschriebene Verfahren haben H. V. Drushel und J. F. Miller[1] zur *Bestimmung aliphatischer Thioäther in Rohpetroleum und dessen chromatographischen Fraktionen* benutzt. Zu diesem Zweck wurden bei $\lambda = 310$ mμ die Extinktionskoeffizienten der mit molekularem Jod entstehenden Komplexe zahlreicher (38) aliphatischer, aromatischer und gemischter Thioäther, Mercaptane, Di- Tri- und Polysulfide sowie von Thiophenderivaten gemessen. Während man bei den aliphatischen Thioäthern Extinktionskoeffizienten von etwa 400 [l/g · cm] findet — dieser Wert wird auch der Berechnung der Analysenergebnisse zugrunde gelegt —, ist bei den übrigen Substanzen fast ausnahmslos $\varepsilon < 20$ [l/g · cm]. Bei den symmetrischen Di-n-Alkylsulfiden nimmt — abgesehen vom Dimethylsulfid (2-Thiapropan) — ε linear mit der C-Zahl zu. Die Messungen werden geringfügig verfälscht durch aromatische Kohlenwasserstoffe, die ebenfalls mit molekularem Jod Komplexe bilden. Die Lage ihrer Absorptionsmaxima und die zugehörigen Extinktionskoeffizienten sowie die Komplexbildungskonstanten sind für etliche Aromaten angegeben. Bei Kenntnis des Gehaltes an Aromaten und ihrer Molgewichte kann man die Störung berechnen. Sie entspricht in der Regel einem scheinbaren Sulfidgehalt von 0,01—0,02 Gew-%, während die wahren Gehalte verschiedener Rohöle an aliphatischen Thioäthern mit 0,26—0,78 Gew-% bzw. mit etwa 0,15—1,0 Gew-% in den chromatographischen Fraktionen eines Rohöles angegeben werden. Der durch die Lichtabsorption gewisser Kohlenwasserstoffe hervorgerufene, relativ hohe Untergrund der photometrischen Messungen stört nur bei großen Probenkonzentrationen, macht aber die Verwendung eines Sekundärelektronenvervielfachers (Photomultiplier) empfehlenswert. Die genannten Störungen bedingen eine Streuung der Analysenergebnisse von 10%. Die Verff. finden übereinstimmend mit S. H. Hastings und B. H. Johnson[2] negative Temperaturkoeffizienten der Extinktion und Empfindlichkeitszunahme bei Erhöhung des Jodüberschusses. Sie verwenden deshalb für jede Bestimmung 1 ml einer Lösung von 10 g/l Jod in Tetrachlorkohlenstoff und füllen mit der hinreichend mit Tetrachlorkohlenstoff verdünnten Probelösung auf 10 ml auf. Die Verdünnungen wurden so gewählt, daß die gegen eine Blindprobe bei 310 mμ gemessenen Extinktionen zwischen 0,4 und 1,0 lagen. Zur Messung wurde ein Beckman DU-Spektralphotometer benutzt. H. Specker

Polarographie von 2,3-Dimercaptopropanol. Wird 2,3-Dimercaptopropanol in Britton-Robinson-Pufferlösung polarographiert ($t = 3{,}4$ sec, $m = 1{,}90$ mg/sec, 50 cm Hg-Säule), so ist das Polarogramm nach P. Zuman, R. Zumanová und J. Teisinger[3] durch eine anodische Adsorptionsstufe charakterisiert, die bei sehr kleinen Konzentrationen (bis zu 10^{-4} m) allein existiert, deren Höhe der Konzentration proportional ist und deren Halbstufenpotential mit steigendem p_H-Wert um je 58 mV unedler wird (oberhalb p_H 9 nur um je 29 mV). Bei höheren Konzentrationen (bis $4 \cdot 10^{-4}$ m) tritt eine zweite positivere Stufe hinzu, die auf eine Depolarisation des adsorbierten Quecksilbersalzes 1:1 zurückzuführen ist und deren Halbstufenpotential ebenfalls mit 58 mV/p_H zu negativeren Werten verschoben wird. Die

[1] Analyt. Chemistry **27**, 495—501 (1955). Mellon Inst. Ind. Res., Pittsburgh, Pa.

[2] Analyt. Chemistry **27**, 564 (1955); vgl. das vorstehende Referat.

[3] Collect. czechoslov. chem. Commun. **20**, 139—146 (1955). Akad. Wiss. und Inst. Arbeitshyg. Berufserkr. Prag.

Höhensumme beider Stufen ist der Konzentration proportional und von der Zeit sowie von einem Alkoholgehalt bis zu 80% unabhängig. Bei noch höheren Konzentrationen wird das Polarogramm durch komplizierte Adsorptionsvorgänge weiter verändert. In alkalischer Lösung tritt eine p_H-unabhängige Adsorptionsstufe bei positiveren Potentialen auf, die der Bildung eines zweiwertigen Quecksilbersalzes entsprechen soll. K. Cruse

Über die Identifizierung sekundärer aliphatischer Amine mit Hilfe der kristallographischen und optischen Eigenschaften ihrer Diliturate (Nitrobarbiturate) berichten E. M. Plein und B. T. Dewey[1], nachdem sie in früheren Arbeiten[2] dieses Prinzip auf den Nachweis primärer aliphatischer und aromatischer Amine angewandt hatten. Die Arbeit enthält die Kristalldiagramme und optischen Konstanten der Diliturate von 20 sekundären aliphatischen Aminen. H. Sperlich

Methylhydrazin(I) kann nach H. McKennis jr. und A. S. Yard[3] colorimetrisch in Anlehnung an die von M. Pesez und A. Petit[4] für Hydrazin ausgearbeitete Methode bestimmt werden. Das Verfahren beruht auf der Reaktion von I mit p-Dimethylaminobenzaldehyd in wäßriger Schwefelsäure, wobei ein Farbstoff entsteht, der in weniger als 15 min seine größte Farbstärke erreicht und ein Absorptionsmaximum bei 458 mμ aufweist. Zur Aufstellung der Eichkurve werden je 5,5 ml Lösung, enthaltend 25—80 μg I-Sulfat, mit 0,5 ml wäßriger p-Dimethylaminobenzaldehydlösung[5] versetzt. Die Bestimmung wird durch alle Stoffe gestört, die die Bestimmung von Hydrazin selbst beeinträchtigen. Größere Mengen von I können titrimetrisch nach der Jodatmethode von G. S. Jamieson[6] bestimmt werden. $CH_3NHNH_2 + KJO_3 + 2HCl \rightarrow KCl + JCl + 2H_2O + CH_3OH + N_2$. Der Endpunkt kann in Tetrachlorkohlenstoff oder mit einem Indicator erkannt werden. H. Sperlich

Zur Bestimmung des Farbtones von 2,4-Dinitrophenylhydrazonen benutzen K. Yamaguchi, S. Fukushima, T. Tabata und M. Ito[7] die an den reinen, feinpulvrigen Substanzen gemessenen Remissionsspektren. Die Untersuchung erstreckt sich auf die 2,4-Dinitrophenylhydrazone von 32 Carbonylverbindungen, darunter aromatische und aliphatische Aldehyde und Ketone und Carbonylderivate von O-Heterocyclen und Terpenkohlenwasserstoffen. Die Substanzen wurden zur Messung auf eine mittlere Teilchengröße von 1—50 μ Durchmesser vermahlen. Ihre Spektren wurden im Bereich von 400—700 mμ mit einem Beckman-Spektralphotometer, Modell B, mit Remissionsansatz gemessen. Der spektrale Charakter der Remission ist im wesentlichen in allen Fällen gleichartig: Auf einen Bereich geringer Remission bei kleinen Wellenlängen folgt im mittleren Spektralbereich eine mehr oder weniger steile Remissionsflanke, die in ein Gebiet maximaler Remission bei langen Wellen übergeht. Der Fußpunkt der Remissionsflanke liegt bei den Dinitrophenylhydrazonen gesättigter Carbonylverbindungen bei 470—500 mμ und

[1] Analyt. Chemistry **27**, 307—308 (1955). Univ. Seattle, Wash. und Univ. Portales, N. M. (USA).

[2] Plein, E. M., and B. T. Dewey: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **15**, 534 (1943); **18**, 515 (1946).

[3] Analyt. Chemistry **26**, 1960 -1963 (1954). Med. College, Richmond, Va. (USA).

[4] Bull. Soc. chim. France, Mém. [5] **14**, 122 (1947); vgl. diese Z. **129**, 403 (1949).

[5] Wood, P. R.: Analyt. Chemistry **25**, 1879 (1953); vgl. diese Z. **145**, 462 (1955).

[6] Siehe I. M. Kolthoff, J. Amer. chem. Soc. **46**, 2009 (1924); vgl. diese Z. **66**, 469 (1925).

[7] J. pharmac. Soc. Japan **74**, 1327 1331 (1954) [Japanisch]. (Nach engl. Zus. fass. ref.) Nation. Hyg. Lab., Tokio.

verschiebt sich bei den Derivaten olefinischer, aromatischer und oxy- bzw. aminosubstituierter aromatischer Carbonylverbindungen bis etwa 580 mμ. In der gleichen Reihenfolge nimmt die Steilheit der Remissionsflanken ab, während die Farbe von Gelb in Rot übergeht. Zur zahlenmäßigen Fixierung der Farbtonwerte benutzen die Verff. den Quotienten aus der bei verschiedenen Wellenlängen gemessenen prozentualen Remission und dem bei 650 mμ bzw. 700 mμ gefundenen Wert (z. B. R 550/R 650). Auf diese Weise können feine Unterschiede der Farbtonwerte zahlenmäßig dargestellt werden.

K. Yamaguchi, M. Ito und K. Bando[1] haben die vorstehend referierten Untersuchungen über das spektrale Remissionsvermögen von 2,4-Dinitrophenylhydrazonen als Grundlage für die *Berechnung der den einzelnen Verbindungen zugeordneten Normfarbwerte und Normfarbwertanteile* benutzt. Die Ergebnisse sind in Farbtafeln dargestellt sowie in einer Tabelle, die außerdem Angaben über die Reinheit und den spektralen Schwerpunkt der Farben enthält. H. Specker

Gemische von Fettsäuren, Mono-, Di- und Triglyceriden können nach einer von P. Savary und P. Desnuelle[2] ausgearbeiteten chromatographischen Technik analysiert werden. Sie beruht darauf, daß Amberlite IRA 400 die Säuren zurückhält, die Glyceride aber quantitativ passieren läßt. In der Glycerinfraktion werden dann die Mono-, Di- und Triglyceride mittels Verteilungschromatographie auf siliconisiertem Kieselgur mit einem aus Cyclohexan, Äthanol und Wasser bestehenden Lösungsmittel getrennt. Die Trennung der 3 Gruppen ist sehr befriedigend, außer wenn die Glyceride gleichzeitig C_{12}- und C_{16-18}-Ketten enthalten. Die unstabilen Glyceride können im Kontakt mit Alkohol während der Verteilungschromatographie sich isomerisieren. Da damit keine Dismutation verbunden ist, bleibt die Gesamtzusammensetzung der Gemische unverändert. Der Alkohol kann notfalls durch Aceton ersetzt werden, das keine isomerisierende Wirkung ausübt. — *Fettsäureadsorption.* 10 g von mit Wasser gesättigtem Amberlite IRA 400 suspendiert man in n Natronlauge und filtriert die Suspension durch Glaswolle in eine Säule von 12 mm innerem Durchmesser. Man wäscht das Harz bis zur Neutralität mit Wasser, dann 3mal mit 40 ml 95%igem Äthanol und 3mal mit 30 ml neutralem, peroxydfreiem Äther. Hierauf bringt man die in 25 ml Äther gelöste Probe (mit maximal 300 mg Fettsäuren) auf die Säule und regelt den Durchsatz auf 1 Tr./sec. Man wäscht 3mal mit 15 ml Äther, was zum quantitativen Entzug der Glyceride ausreicht. Die fast vollständig fixierten Säuren eluiert man mit einem Gemisch von 50 Vol 95%igem Äthanol, 10 Vol 10 n Salzsäure und 75 Vol Äther. Die Struktur der Glyceride bleibt beim Durchgang durch das Harz unverändert. — Die *Verteilungschromatographie* erfolgt auf einer Säule von siliconisiertem Kieselgur[3]. Als Lösungsmittel benutzt man ein Gemisch von 600 ml 95%igem Äthanol, 80 ml Wasser und 200 ml Cyclohexan, die man miteinander bei einer um 1—2° C höheren Temperatur, als sie bei der Anwendung herrscht, ins Gleichgewicht bringt. Die so hergestellte mobile Phase löst die gesättigten Di- und Triglyceride ziemlich schlecht. Sind diese daher reichlich vorhanden, so muß man sich mit ihrer Suspension im Lösungsmittel von Versuchstemperatur (26° C) zufrieden geben. Man pipettiert von dieser Suspension 2—3 ml auf die Säule (die Pipette muß ebenfalls Versuchstemperatur haben). Mit dieser Versuchsanordnung erhält man die Mono- und Di-Glyceride deutlich getrennt. Die Triglyceride besitzen einen sehr hohen Verteilungskoeffizienten (500 minimal).

[1] J. pharmac. Soc. Japan **74**, 1332—1335 (1954) [Japanisch]. (Nach engl. Zus. fass. ref.)

[2] Bull. Soc. chim. France **1954**, 936—940. Fac. Sciences, Marseille (Frankreich).

[3] Savary, P., und P. Desnuelle: Bull. Soc. chim. France **20**, 939 (1953).

so daß ihre Wanderungsgeschwindigkeit sehr gering ist. Sobald die Diglyceride entfernt sind, eluiert man die Trigylceride mit reinem Cyclohexan. Die Kennzeichen der Säulen sind: Querschnitt 2,2 cm², fixe Phase 5 ml, Kieselgur 10 g, Durchsatz 8 ml/Std. Ein Wassermantel (34° C) umgibt die Säule und den Vorratsbehälter für das Lösungsmittel. — Weitere Ergebnisse und Erörterungen, darunter der Fall eines Lipolysats (mit 2-Mono- und 1,2-Diglyceriden) sind dem Original zu entnehmen. H. Freytag

Eine Analyse von Natriumsalzen einfacher organischer Säuren führten E. Childers und G. W. Struthers[1] durch. Es wurden die Ultrarotspektren der Natriumsalze von einfachen monobasischen Carbonsäuren (Essigsäure bis Capronsäure) und von Dicarbonsäuren (Oxalsäure bis Pimelinsäure) untersucht. Die Bestimmung der freien Säuren ist nicht durchführbar, da Assoziationen infolge Wasserstoffbrücken auftreten und dadurch die Spektren unspezifisch werden. Die Natriumsalze der Säuren zeigen im Gegensatz hierzu in ihren Ultrarotspektren eine bemerkenswerte Spezifität, so daß sie zur qualitativen und quantitativen Bestimmung der Säuren herangezogen werden können. Zur Analyse wird der Spektralbereich von 2—15 μ benutzt. Die Genauigkeit der quantitativen Analyse beträgt etwa 4%, am Beispiel der Bestimmung von Adipinsäure in einem Adipinsäure-Glutarsäuregemisch gezeigt. Betreffs Einzelheiten der Durchführung sei auf die Originalarbeit verwiesen. H.-F. Kurandt

Für die chromatographische Trennung nicht flüchtiger organischer Säuren haben sich nach R. W. Scott[2] *Mischungen von Ketonen und Halogenkohlenwasserstoffen als Eluierungsflüssigkeit* gut bewährt. Zur Herstellung der Chromatographierkolonne reibt man 1 g Kieselsäure mit 0,5 ml 0,5 n Schwefelsäure an, suspendiert in etwas Lösungsmittel und bringt die Aufschlämmung in eine passende Röhre. Die nach bekanntem Verfahren durchgeführte Entwicklung erfolgt mit einem Gemisch von 25 Vol-% 4-Methyl-2-pentanon(I) und 75 Vol-% Methylenchlorid. Nach Auffangen von 20 Fraktionen zu je 1 ml wird für die Fraktionen 21—50 ein Gemisch mit 60 Vol-% I zur Eluierung benützt. Zuletzt werden mit reinem I weitere 50 Fraktionen zu je 1 ml gewonnen. Mit diesem Verfahren gelingt die Trennung von *Fumarsäure, Bernsteinsäure, Oxalsäure, Glykolsäure, Äpfelsäure, Citronensäure und Isocitronensäure* (Diagramm im Original). Zur weiteren Trennung und Identifizierung der einzelnen Komponenten wird die Rundpapierchromatographie nach A. Saifer und I. Oreskes[3] bzw. nach J. W. Airan, G. V. Joshi, J. Barnabas und R. W. P. Master[4] durchgeführt. Die Entwicklung erfolgt in einer Petri-Schale auf einer Filterscheibe von 19 cm Durchmesser mit den Lösungsmitteln: a) 25 Vol Chloroform + 75 Vol n-Butanol + 0,1 Vol 10%iger Ameisensäure (AS), b) 90 Vol Methylenchlorid + 8 Vol n-Propanol + 2 Vol 85%iger AS, c) 14 Vol Methylenchlorid + 1 Vol 98%iger AS. Die Lösungen der Säuren werden auf einem Kreis von 1,5 cm Radius um den Mittelpunkt aufgetragen, als Bezugssubstanz wird Sudan III, in Aceton gelöst, zugesetzt, das mit der Lösungsmittelfront wandert ($R_f = 1$). Nach einem Laufweg von etwa 7 cm wird das Papier 20—30 min bei 170—180° C getrocknet. Die Sichtbarmachung der Säureflecke erfolgt durch Besprühen mit einer Lösung von 440 mg Bromkresolgrün in 1 l 80%igem Äthanol, die mit Natronlauge bis zur Dunkelgrünfärbung versetzt wird. Sie erscheinen gelb auf blauem Grund und

---

[1] Analyt. Chemistry **27**, 737—741 (1955). E. I. du Pont de Memours & Co., Inc., Charleston, W. Va. (USA).

[2] Analyt. Chemistry **27**, 367—369 (1955). Univ. Madison, Wis. (USA).

[3] Analyt. Chemistry **25**, 1539 (1953); vgl. diese Z. **148**, 128 (1955).

[4] Analyt. Chemistry **25**, 659 (1953); vgl. diese Z. **142**, 47 (1954).

sind einige Wochen haltbar (Tabelle mit den R_f-Werten für die genannten Lösungsmittel im Original). K. Söllner

Die papierchromatographische Trennung ungesättigter Fettsäuren wird von V. Kobrle und R. Zahradník[1] untersucht. Nach früheren Versuchen der Verff.[2] liefert eine ungesättigte Fettsäure einen R_f-Wert, der ebenso groß ist wie der einer gesättigten, aber um 2 C-Atome ärmeren Fettsäure. Die Verff. zeigen nun, daß eine Trennung durch Chlorierung der ungesättigten Fettsäuren ermöglicht wird. Man halogeniert gemäß der Methode von Hanuš zur Bestimmung der Jodzahl. Man beläßt das Gemisch aus der benzolischen Lösung der ungesättigten Fettsäure und der Jodmonobromidlösung in Eisessig 30—60 min lang im Dunkeln. Den Überschuß an Jodmonobromid entfernt man durch Ausschütteln mit Natriumthiosulfat. Die benzolische Lösung wäscht man bis zur neutralen Reaktion des Wassers (Prüfung mit Indicatorpapier). Nach Trocknung der Benzollösung mit Natriumsulfat destilliert man das Benzol unter mäßig erniedrigtem Druck ab. Die Halogenderivate löst man zu 1%igen Lösungen in Benzol oder Äthanol und trägt auf imprägniertem Papier auf. Die weitere Durchführung sowie das Sichtbarmachen der Tüpfel mit Silbernitrat wurde bereits beschrieben[2]. Die Tüpfel der *Halogenfettsäuren* erscheinen *gelb*. Bei Verwendung von Whatman-Papier Nr. 1, das mit 12% Olivenöl imprägniert und mit 80 Vol-%ig. Äthanol ausgewaschen wird, wurden folgende R_f-Werte gemessen.

Fettsäure	R_f der ungesättigten Säure	R_f der Halogenfettsäure
Undecylen-	0,85	0,57
Öl-	0,45	0,22
Elaidin-	0,39	0,22
Eruca-	0,20	0,05

Die hydroxylierten ungesättigten Säuren unterscheiden sich in ihren R_f-Werten nur wenig von den zugehörigen ungesättigten Säuren. Durch Hydroxylierung werden daher die Trennungsmöglichkeiten auf Papier nicht verbessert. P. Savary und P. Desnuelle[3] verwendeten die Hydroxylierung zur verteilungschromatographischen Trennung auf Säulen. H. Freytag

Die Reduktion von Nitroguanidin mit Titan(III)-chlorid in Gegenwart von Eisen(II)-salz in salzsaurer Lösung wurde von W. W. Brandt, J. E. DeVries und E. St. Clair Gantz[4] in bezug auf den Gesamtverlauf und den Reaktionsmechanismus genau untersucht. Die $TiCl_3$-Lösung war in Salzsäure (1:1) hergestellt. In einem Gemisch von 20 Äquiv. Titan(III), 20 Äquiv. Eisen(II) und 1 Äquiv. Nitroguanidin verläuft die Reduktion des Guanidins quantitativ unter Verbrauch von 8 Äquiv. Titan(III) zu den Endprodukten Guanidin und Ammoniak. Intermediär entsteht Hydroxylaminguanidin, das nur in Anwesenheit von Eisen(II) durch Titan(III) zu den angegebenen Endprodukten reduziert werden kann. Die Gesamtreaktion dürfte sich nach Meinung der Verff. zur Bestimmung von Nitroguanidin verwenden lassen[5]. A. Kurtenacker

[1] Chem. Listy **48**, 1703—1705 (1954) [Tschechisch]. Inst. f. Arbeitshygiene u. Berufskrankheiten, Prag.

[2] Kobrle, V., u. R. Zahradník: Chem. Listy **48**, 1189 (1954); vgl. diese Z. **147**, 203 (1955).

[3] Bull. Soc. chim. France **20**, 939 (1953).

[4] Analyt. Chemistry **27**, 392—395 (1955). U.S. Naval Ordnance Test Station, Inyokern, China Lake, Calif. (USA).

[5] Ein ähnliches Verfahren, aber in schwach saurer, gepufferter Lösung ohne Eisen(II)-zusatz vgl. P. D. Sternglantz, R. C. Thompson und W. L. Sawell. Analyt. Chemistry **25**, 1111 (1953); vgl. diese Z. **146**, 42 (1955).

Ein Verfahren zur säulenchromatographischen Trennung von Dinitrophenyl-(DNP)-aminoalkoholen haben W. Grassmann, H. Hörmann und H. Endres[1] ausgearbeitet. Als Lösungsmittel dienen Gemische aus Ligroin, Eisessig und Essigester bzw. Aceton, als Säule Kieselsäure-Celite. — *Arbeitsweise.* Silicagel (BASF, „für Säulenchromatographie") und Celite 545 werden im Verhältnis 4 : 1 gemischt und in abs. Äther aufgeschlämmt. Das Gemisch wird in Anteilen in ein unten durch Wattebausch verschlossenes Chromatographierrohr von 9 mm ∅ gegossen, so daß das Füllmittel jeweils 2 cm hoch steht. Der Äther wird unter Anwendung von Überdruck durch die Füllung gepreßt, wobei stets noch eine kleine Menge überstehen soll; alsdann wird eine neue Füllung eingeschlämmt und diese Prozedur bis zu einer Füllhöhe von 200 mm wiederholt. Anschließend gibt man noch etwa 10 ml abs. Äther durch die Säule, wäscht mit 10 ml einer Äther-Acetonmischung (1 : 1, wasserfrei) und mit 10 ml Ligroin nach und setzt schließlich die Säule mit etwa 30 ml des vorgesehenen, *mit größter Sorgfalt getrockneten* Lösungsmittelgemischs ins Gleichgewicht. Das zu trennende Substanzgemisch wird in 1—3 ml Essigester gelöst, vorsichtig mit der Pipette aufgebracht und aufsaugen gelassen, worauf mit dem wiederum bestausgetrockneten Lösungsmittel so hoch nachgefüllt wird, daß dieses mit einer Geschwindigkeit von etwa 10—14 ml/Std durch die Säule läuft. Das auslaufende Eluat kann fraktionsweise bei 366 mμ quantitativ colorimetriert werden. Dabei ist zu beachten, daß die Extinktionen für die einzelnen DNP-Aminoalkohole keinesfalls gleich sind. Sie wurden z. B. bei 5 untersuchten Vertretern zwischen 0.743 und 1,535 schwankend gefunden; eine weitere geprüfte Verbindung zeigt sogar eine Extinktion von nur 0,064. Geeignete Lösungsmittelgemische sind Ligroin-Eisessig-Aceton in den Verhältnissen 94 : 4 : 2, 88 : 2 : 10, 84 : 8 : 8, 75 : 15 : 10, sowie Ligroin-Eisessig-Essigester (85 : 3 : 12). Zur Trennung komplexer Gemische werden zuerst die am wenigsten adsorbierbaren Verbindungen mit einem Gemisch geringer Affinität entwickelt. Sobald die frontal wandernde Verbindung das untere Ende der Säule erreicht hat, wird jeweils das Lösungsmittel gewechselt. Das Vorgehen in einem konkreten Beispielfall, und zwar an einer Mischung von 8 DNP-Aminoalkoholen[2], ist in der Originalarbeit näher erläutert. R. Klockmann

Chloressigsäuren. Nach M. Jorge und J. R. Barceló[3] können Mono-, Di- und Trichloressigsäure einzeln oder gemischt auf Grund von Intensitätsmessungen an charakteristischen Frequenzen der Ramanspektren bestimmt werden. Von den binären und ternären Gemischen der drei Säuren werden die gleichzeitig auftretenden Frequenzen bestimmt und unter diesen für die Intensitätsmessungen solche gewählt, die hinreichend von einander getrennt sind. In allen binären Systemen besteht Proportionalität zwischen dem Logarithmus der Verhältnisse der Intensitäten der Linien ($\log I_1/I_2$) und dem Logarithmus der Verhältnisse der Konzentrationen ($\log C_1/C_2$) der beiden Stoffe. Die etwa anwesende dritte Chloressigsäure beeinflußt die Bestimmung der beiden anderen nicht. Die Bestimmungen sind durchführbar, wenn der Gehalt jeder Säure im Gemisch wenigstens 10% beträgt. Bei kleineren Gehalten müßten die Expositionszeiten sehr verlängert werden. — Die verwendete Apparatur (Zeiss-Spektrograph, Quecksilberlampe, Ramanröhre, Zeiss-Spektrallinienphotometer) wird, so weit es sich um eigene Herstellungen handelt, genau beschrieben. Irmgard Schweitzer

[1] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **296**, 208—213 (1954). Max-Planck-Ges., Regensburg.

[2] DNP-Leucinol, DNP-Valinol, DNP-Alaninol, DNP-Phenylalaninol, DNP-Prolinol, DNP-Colamin, DNP-Glutamin-diol und DNP-Asparagin-diol.

[3] An. real Soc. espaň. Física Quím., Ser. B, **51**, 125—130 (1955). Inst. de Optica „Daza de Valdés", Madrid (Spanien).

Zur Trennung normaler und verzweigter aliphatischer Dicarbonsäuren von C_2 bis C_{12} entwickelt H. KALBE[1] ein *papierchromatographisches Verfahren.* Von den untersuchten Lösungsmittelsystemen erwiesen sich die folgenden als gut geeignet: *A.* Saure Systeme: 1. Xylol-Phenol-85%ige Ameisensäure (5 : 5 : 2) oder (7 : 3 : 1) (in beiden Fällen *g/g/v*); 2. Isoamylformiat-Wasser-98 bis 100%ige Ameisensäure (11 : 1 : 2) (*v/v/v*); 3. n-Amylformiat-Wasser-98 bis 100%ige Ameisensäure (7 : 1 : 2) (*v/v/v*). — *B.* Basische Systeme: 4. Isopropanol oder n-Propanol-Ammoniumcarbonatpufferlösung (3 : 1) (*v/v*). (Pufferlösung: 1,50 n Ammoniumcarbonatlösung in 3 n Ammoniak); 5. Tetrahydrofuran-3,00 n Ammoniaklösung (4 : 1) (*v/v*). — Das letzte System eignet sich auch sehr gut zur *Trennung der niederen einbasischen Fettsäuren* C_2—C_8. Bei dem absteigenden Verfahren genügt dabei eine Laufzeit von 7—10 Std. Zur Sichtbarmachung der Flecken bewährt sich eine 0,03%ige Methylrotlösung in 0,05 m Boratpuffer von p_H 8,0 als sehr empfindliches Reagens, das beständige Färbungen liefert. Mit dem Reagens können 1—2 μg der normalen Dicarbonsäuren bei Benutzung basischer, 2—3 μg bei Benutzung saurer Lösungsmittelgemische noch erfaßt werden. Die mit sauren Gemischen erhaltenen Chromatogramme müssen nach dem Trocknen zur Entfernung noch anhaftender Ameisensäure mit Wasserdampf behandelt werde. — Entgegen der Theorie von A. J. P. MARTIN[2] und E. C. BATE-SMITH und R. G. WESTALL[3] besteht bei den aliphatischen Mono- und Dicarbonsäuren keine einfache mathematische Beziehung zwischen den R_f-Werten und der Zahl der C-Atome der Säuren. — Die Arbeit von KALBE[1] enthält zahlreiche Einzelheiten über das chromatographische Verhalten der verschiedenen Säuren sowie über die technische Durchführung der Papierchromatographie; u. a. wird eine Ganzglaskammer beschrieben, die luftdicht verschließbar ist und in der sich Aufhängevorrichtungen für auf- und absteigendes Chromatographieren befinden, die ein nochmaliges Öffnen der Kammer zum Einhängen der Bogen oder zum Eingießen des Lösungsmittels überflüssig machen, so daß das Gleichgewicht der Kammeratmosphäre nicht gestört wird. H. FREYTAG

Nachweis und Bestimmung von Oxalat. Von den durch Oxalat-Ion beschleunigten Farbreaktionen, welche bei der Oxydation organischer Verbindungen mit Chromat oder Vanadat entstehen, ist die Reaktion von Vanadat mit Anilin die empfindlichste. Diese Reaktion verwenden GY. ALMÁSSY und I. DEZSŐ[4] zum *Mikronachweis von Oxalat.* In 1 ml Lösung von p_H 1—2 kann mit einigen Tropfen Anilinhydrochlorid und 0,1 n Natriumvanadat noch 1 μg Oxalat-Ion erfaßt werden. Je nach der Konzentration wird die Lösung sofort oder nach einigen Minuten blaugrün, die Blindprobe wird grünlichgelb. Farblose Ionen und farbige unterhalb 1 mg stören nicht. Fluor und Phosphat verzögern die Reaktion. *Zur quantitativen* Bestimmung kann die durch Oxalat aktivierte Reaktion zwischen Chrom(VI) mit Mangan(II) dienen[5]; da jedoch weder die Abnahme der Extinktion der sehr verdünnten Dichromatlösung, noch die schwach grüne Farbe der gebildeten Chrom(III)-Ionen meßbar wäre, wird die Farbe des Chromats, durch die Reaktion mit Diphenylcarbazid verstärkt, gemessen. Vielfache Mengen von Fremd-Ionen stören nicht. In 1 ml Lösung können 0,5 μg Oxalat bestimmt werden. J. PLANK

---

[1] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **297**, 19–44 (1954). Max-Planck-Ges., Göttingen.

[2] Biochem. Soc. Symposia **3**, 4 (1949).

[3] Biochim. biophys. Acta **4**, 427 (1950).

[4] Magyar Kémiai Folyóirat **61**, 107—109 (1955) [Ungarisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.). Univ. Debrecen (Ungarn).

[5] ALMÁSSY, GY., und I. DEZSŐ: Magyar Kémiai Folyóirat **60**, 215 (1954); vgl. diese Z. **147**, 141 (1955).

Zur chromatographischen Trennung von Carbonsäuren, und zwar von Di-, Tri- und kurzkettigen Monocarbonsäuren, ferner von α-Ketosäuren und Milchsäure, bedienen sich D. S. KINNORY, Y. TAKEDA und D. M. GREENBERG[1] mit Erfolg einer Säule von Silicagel und einer — stetig variierten — Mischung von Benzol/Äthyläther[2] als Waschmittel. Die Verff. fangen das Eluat mittels eines Fraktionssammlers in mehr als 300 Röhrchen auf, die mit je 1 ml Wasser beschickt sind. Die Lösungsmittelfraktionen selbst betragen 2 bzw. 4 ml. In jedem Röhrchen werden die beiden Phasen mittels eines CO_2-freien Luftstromes durchgemischt; die vorhandene Säure wird mit 0,001 n Natronlauge und einem geeigneten Indicator[3] titriert. Mengen von 2 bis 65 μÄquivalent sollen gut bestimmbar sein; tabellierte und graphisch wiedergegebene Befunde einer recht komplizierten Mischung von 11 verschiedenen Säuren (Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Milchsäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Fumarsäure, Citronensäure, Brenztraubensäure, α-Ketoglutarsäure, α-Ketobuttersäure) sprechen für die Verläßlichkeit der Methode. — Die als Säule benutzte Kieselsäure wird von den Verff. in folgender Weise vorbehandelt. 8,8 g einer chromatographischen Spezialsorte (Fa. Mallinckrodt) wird mit 5,4 ml 0,05 n Schwefelsäure zusammengerieben, bis ein fein verteiltes Pulver entsteht. Dann werden in mehreren Anteilen insgesamt 45 ml eines gleichfalls mit 0,05 n H_2SO_4 gesättigten Chloroforms hinzugefügt, und das Zerreiben bis zum Erhalt einer weichen, klümpchenfreien Suspension fortgesetzt. Die Suspension wird in eine 50 ml-Bürette gefüllt, diese mehrmals zwischen den Händen rotieren gelassen, um letzte Luftblasen aus der Füllung zu entfernen, und die Füllung zum Absitzen gebracht. Silicagelreste an den Wänden der Bürette entfernt man durch Absaugen mittels Vakuums. Nach dem Einsickern des letzten Tropfens Chloroform wird *sofort* (ohne die Säule trocken werden zu lassen!) Benzol, das wiederum mit 0,05 n H_2SO_4 gesättigt ist, nachgegeben, und zwar durch vorsichtiges Auslaufenlassen einer Pipette an der Bürettenwand herunter; es sind hierfür etwa 100 ml vorzusehen. Nun kann die — wäßrige — Probelösung aufgegeben werden, zweckmäßig durch Aufsaugenlassen in ein dickes Filterscheibchen passenden Durchmessers[4], das der Kieselsäurefüllung aufgelegt ist. R. KLOCKMANN

Mikroverfahren zur Bestimmung der primären aromatischen Amine durch potentiometrische Titration mit Natriumnitrit. L. M. LITVENENKO und A. P. GREKOV[5] haben ein Mikroverfahren ausgearbeitet, nach welchem die Amine aber auch bei Makrotitrationen erfolgreich bestimmt werden können. Die Einwaage (0,01—0,05 Millimol) des Amins wird in 5—20 ml 2—10%iger Salzsäure gelöst. Sollte sich das Amin schwer lösen, so kann man es in warmer konzentrierter Schwefelsäure auflösen und mit Eisessig verdünnen. In den meisten Fällen wird jedoch ein Auflösen in Essig- oder Ameisensäure zum Ziel führen, wonach man mit konzentrierter Salzsäure bis auf etwa 2—10% Gehalt verdünnt. Daraufhin wird KBr als Katalysator zugegeben, bis die Lösung wenigstens 0,3—0,4 n daran

[1] J. biol. Chemistry **212**, 379—383 (1955). Univ. Berkeley, Calif. (USA).

[2] Verwendet wurde ein Mischgerät nach DONALDSON, K. O., V. J. TULANE and L. R. MARSHALL: Analyt. Chemistry **24**, 185 (1952); vgl. diese Z. **138**, 54 (1953). Über Grundsätzliches zu dieser „gradient elution"-Technik vgl. auch BOCK, R. M., and N.-S. LING: Analyt. Chemistry **26**, 1543 (1954); vgl. diese Z. **147**, 40 (1955).

[3] Die Verff. verwenden Methylrot als Indicator; richtiger erscheint Phenolphthalein, bei dessen Anwendung auch möglicherweise ein durchweg erhaltenes, kleines Defizit vermieden worden wäre (Der Referent).

[4] Zum Beispiel ein ausgestanztes Scheibchen aus einer Filtertablette „Whatman"; der Durchmesser soll gerade eine Spur kleiner als der der verwendeten Bürette sein.

[5] Ž. anal. Chim. **10**, 164—168 (1955) [Russisch]. Gorki-Univ., Charkow.

ist. Unter energischem Umrühren wird nun mit 0,01 n $NaNO_2$-Lösung bis zum Äquivalenzpunkt potentiometrisch titriert, anfangs dabei 1—2, am Endpunkt 0,02 ml Nitritlösung auf einmal zusetzend. Das Verfahren ist an etwa 100 verschiedenen aromatischen Aminen von sehr unterschiedlichem Bau geprüft worden, Beleganalysen weisen gute Ergebnisse auf. A. VON WILPERT

Aminosäuren. In einer vorläufigen Mitteilung haben D. KALÁB und F. FRANĚK[1] an Hand oscillopolarographischer Untersuchungen an $dV/dt = fV$-Kurven nach HEYROVSKÝ und an der Tropfelektrode wie auch an einer stationären, quecksilberbedeckten Platinelektrode nach T. L. MARPLE und L. B. ROGERS[2] besonders hervorgehoben, daß die unter diesen Aufnahmebedingungen beobachtete, polarographische Aktivität vieler Aminosäuren darauf hinweist, daß die polarographische Aktivität von Eiweißstoffen nicht allein auf der Anwesenheit von SH- oder S-S-Gruppen beruhen kann. Versuchsmethodik und Einzelergebnisse sollen noch ausführlich publiziert werden. K. CRUSE

Die Einflüsse auf das papierchromatographische Verhalten der Aminosäuren wurden von J. C. UNDERWOOD und L. B. ROCKLAND[3] studiert. Verff. stellten fest, daß die Reihenfolge der 19 untersuchten Aminosäuren innerhalb der 4 Gruppen „basisch", „sauer", „neutral" und „aromatisch" unabhängig von der Art des Filtrierpapiers und mit wenigen Ausnahmen auch von der Zusammensetzung des Lösungsmittels ist. Saure und basische Lösungsmittel ergaben reproduzierbare Chromatogramme und bessere Trennungen, insbesondere bei den sauren und basischen Aminosäuren. Am besten bewährten sich die Systeme tert.-Butanol—Wasser—Ameisensäure (75 : 24,2 : 0,8) und Phenol—Wasser—konz. Ammoniaklösung (75 : 21 : 4). — Für ihre Versuche benutzten die Verff. eine besonders kleine Chromatographierkammer (innere Maße 15 × 9 × 15 cm) und sehr kleine Chromatogramme (12,5 × 12,5 cm). Die Sichtbarmachung der Flecke erfolgte nach dem Eintauchverfahren von ROCKLAND. Dabei werden die Chromatogramme rasch durch eine 0,5%ige Lösung von Ninhydrin in einer Mischung von 10 Vol Eisessig, 20 Vol wasserfreiem Pyridin, 30 Vol Methylcellosolve und 40 Vol tert.-Butanol gezogen und 1 min bei 80° C im wasserdampfgesättigten Brutschrank oder besser längere Zeit bei Zimmertemperatur im Abzug getrocknet. H. SPERLICH

Eine neue Apparatur für die zweidimensionale Papierelektrophorese von Aminosäuren hat T. H. MEAD[4] beschrieben. Mit dieser Apparatur kann im einmal aufgelegten und dann mit Substanz beschickten Papierstreifen (Whatman Nr. 20, 46,5 × 46,5 cm) in zwei Abschnitten mit verschiedenen Pufferlösungen und in zwei Dimensionen elektrolysiert werden, ohne daß das Papier zwischendurch abgenommen zu werden braucht. Zunächst wird der Papierbogen mit 250 ml 0,02 m Phthalatpufferlösung (aus Phthalsäure mit 2 n Natronlauge auf p_H 2,5 eingestellt) angefeuchtet, aufgelegt, genau nivelliert und an zwei gegenüberliegenden Seiten in Elektrodentröge eingetaucht, welche die gleiche Pufferlösung enthalten. Nach 1 Std ist hydrostatischer Druckausgleich erreicht. Dann werden 0,5—3 μl Substanz aufgebracht. Zugedeckt wird bei 1000 V anliegender Spannung 140—150 min elektrolysiert. Nach

[1] Pharmazie **10**, 31—32 (1955). Forsch.-Inst. f. Lebensm.-technol., Prag (ČSR).

[2] Analyt. Chemistry **25**, 1351 (1953); vgl. diese Z. **143**, 435 (1954).

[3] Analyt. Chemistry **26**, 1553—1557 (1954). U. S. Dptm. of Agricult., Pasadena 5, Calif.

[4] Biochemic. J. **59**, 534—543 (1955). Council Scient., Ind. Res. und Univ. Cape Town (Südafrikanische Union).

Abschalten des Stromes werden die in die Tröge getauchten Enden abgeschnitten, die Tröge werden entleert und ebenso wie zwei unter den übrigen zwei Papierseiten befindliche Elektrodentröge mit Phthalatpufferlösung gefüllt, die mit konzentriertem Ammoniak auf p_H 10,6—10,7 gebracht ist. Nach Zudecken wird 30 min in dieser mit einem Ventilator bewegten Ammoniakatmosphäre äquilibriert, so daß das ganze Pherogramm hinreichend alkalisiert ist. Dann wird in der neuen Richtung mit 870 V (48—56 mA) 145—150 min elektrolysiert. Während der Elektrolyse wird die Papierauflage laufend mit auf 0,5° C unter Raumtemperatur temperiertem Wasser gekühlt. Nach Abschalten des Stroms, Abschneiden der in die Tröge tauchenden Enden und Entleeren der Tröge wird das Papier, immer noch auf der Auflage, mittels eines Brenners und bei laufendem Ventilator getrocknet. Dann erst wird es zur Entfernung von Ammoniak und zur Färbung herausgenommen. Zum Färben wird das Papier durch 40 ml 1,5%ige Kalilauge in Isopropanol gezogen und mittels Ventilator getrocknet, anschließend ebenso in 2 Vol-%iger Essigsäure in Isopropanol behandelt und schließlich in gleicher Weise in 30 ml 0,5%iger Ninhydrinlösung in Isopropanol, der 1,5 ml Collidin zugesetzt sind. Nach 10—20 min Trocknen an der Luft wird 4 min bei 80—90° C in feuchter Atmosphäre behandelt. — Das Verfahren wird der Färbung nach S. Moore und W. H. Stein[1] vorgezogen, da dieses sehr empfindlich auf Ammoniakreste anspricht, so daß dann die Wäsche mit Kalilauge und Eisessig wiederholt ausgeführt werden muß, wenn nicht besprüht werden soll, wobei die Flecken oft verändert werden. — Die Apparatur ist vor allem zur qualitativen Analyse in Serienuntersuchungen geeignet, da bis zu 16 Aminosäuren innerhalb 9 Std ausreichend getrennt werden. Die Methode versagt lediglich bei der Trennung von Leucin und Isoleucin. K. Cruse

Die Bestimmung von Aminosäuren mit Ninhydrin wird von E. W. Yemm und E. C. Cocking[2], auf den Arbeiten von W. Troll und R. K. Cannan[3] aufbauend, folgendermaßen als Routineanalyse durchgeführt. 0,5 ml 0,2 m Citratpuffer (p_H 5, aus 21,008 g Citronensäure in 200 ml Wasser + 200 ml n NaOH-Lösung auf 500 ml aufgefüllt) werden mit 1 ml einer Aminosäurelösung (0,05—5,6 μg Amino-Stickstoff) gemischt, mit je 0,2 ml einer 5%igen (*G/V*) Ninhydrinlösung in Methylcellosolve ($CH_3OCH_2 \cdot CH_2OH$) (*I*) und 1 ml Kaliumcyanid-Methylcellosolvelösung (aus 5 ml 0,01 m Kaliumcyanidlösung mit Methylcellosolve auf 250 ml verdünnt) (*II*) oder gleich mit 1,2 ml Kaliumcyanid-Methylcellosolve-Ninhydrinlösung (50 ml *I* + 250 ml *II*) versetzt, geschüttelt und 15 min auf 100° C erhitzt. Nach 5 minutigem Abkühlen unter fließendem Wasser verdünnt man mit Äthanol auf ein geeignetes Volumen, schüttelt und mißt in 1 cm-Küvetten bei 570 mμ (Prolin und Oxyprolin bei 440 mμ) gegen einen Blindwert aus 1,5 ml Citratpuffer (p_H 5) und 1,2 ml der KCN-Methylcellosolve-Ninhydrinlösung, der wie die Proben behandelt wird. Die Farbe ist 1 Std stabil. Die Eichkurven sind innerhalb 1% reproduzierbar; fast alle Aminosäuren setzten sich 100%ig um, außer Tyrosin, Phenylalanin (89%), Tryptophan (83%) und Lysin (108%). Ammoniak gibt nur eine Farbausbeute von 33%. Gegenüber der Methode von S. Moore und W. H. Stein[4] wird nur die Hälfte Ninhydrin verbraucht. Für Aminosäureanalysen aus Proteinhydrolysaten erfolgt zunächst eine Trennung mit dem Ionenaustauscherverfahren nach S. Moore und W. H. Stein[5]. Hildegard Telschow

[1] J. biol. Chemistry **176**, 367 (1948); vgl. diese Z. **135**, 206, 209 (1952).
[2] Analyst (London) **80**, 209—213 (1955). Univ. Bristol (England).
[3] J. biol. Chemistry **200**, 803 (1953); vgl. diese Z. **146**, 306 (1955).
[4] J. biol. Chemistry **176**, 367 (1948); vgl. diese Z. **135**, 206, 209 (1952).
[5] J. biol. Chemistry **192**, 663 (1951); vgl. diese Z. **136**, 371 (1952).

Über die Bestimmung der N-endständigen Aminosäuren einiger Prolamine berichtet T. Deutsch[1]. In Fortsetzung der früheren Arbeiten[2] wurden Zein, Avenin, Hordein und das Gliadin von Agropyron christatum untersucht. Zur Bestimmung der N-endständigen Gruppe wurde die 2-4-Dinitrofluorbenzolmethode verwendet und zur Identifizierung der 2-4-Dinitrophenyl(DNP)-aminosäuren deren Trennung mit dem Lösungsmittelgemisch m Natriumcitrat—Isobutanol—Butylacetat papierchromatographisch ausgeführt[3]. Es konnte festgestellt werden, daß Zein Phenylalanin und Threonin, das Avenin Threonin als N-endständige Aminosäuren enthalten, im Hordein und Gliadin aus Agropyron christatum konnten freie N-endständige Aminosäuren nicht nachgewiesen werden. J. Plank

Eine Vereinfachung und Verbesserung der Methode zur quantitativen Bestimmung von Aminosäuren und Peptiden mittels des Ninhydrin-Kupferkomplexes schlägt F. Bode[4] in Fortsetzung seiner papierchromatographischen Arbeiten vor[5]. — 0,01 m Lösungen von Aminosäuren werden auf Sch. & Sch.-Papier Nr. 2043b mit Äthanol (20% n Salzsäure enthaltend) chromatographiert. Laufmittel ist die obere Phase eines Gemisches von 50 ml Wasser, 40 ml n-Butanol und 10 ml Eisessig[6]. Die Bogen werden bei 20° C 30 min an der Luft fast getrocknet und durch eine Ninhydrinlösung gezogen, die aus 90 Teilen Ninhydrinreagens (0,5 g Ninhydrin in 100 ml Aceton) 5 Teilen Wasser und 5 Teilen Eisessig besteht. Nach Entwicklung der Flecke bei 90° C (15 min) wird das Papier durch eine Kupferlösung (1 ml gesättigte Kupfernitratlösung + 0,02 ml 65%ige Salpetersäure mit Aceton auf 100 ml aufgefüllt), gezogen, wobei sich lachsrote Flecke bilden (Trocknen bei Zimmertemperatur 30 min im Dunkeln). Nach dem Ausschneiden gleichgroßer Papierfelder, die die Flecken enthalten, und eines von Flecken freien Feldes für den Leerwert, wird in Reagensgläsern mit 8 ml Methanol eluiert und bei 530 mμ gegen den Leerwert gemessen. Es gelten zwei Eichkurven: Eine für Serin, Glykokoll, Alanin, Valin, Norvalin, Leucin, Methionin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Arginin und Histidin; die zweite für Phenylalanin und Tyrosin. 0,5 μg Aminosäure-N lassen sich noch quantitativ erfassen. Hildegard Telschow

Eine scharfe Abtrennung von Ornithin aus Gelatinehydrolysaten erreichen P. B. Hamilton und R. A. Anderson[7] mittels Chromatographierung auf Dowex 50. Dieses wird, nachdem alle Teile größer als 200 mesh und kleiner als 400 mesh abgetrennt wurden, nach der Methode von S. Moore und W. H. Stein[8] in die Natriumform übergeführt, in Röhren von 0,9 × 15 cm eingefüllt und mit 0,1 m Citratpuffer von p_H 3,4[8] ins Gleichgewicht gebracht. Das Gelatinehydrolysat wird im Vakuum zur Trockne abgedampft, der Rückstand wird in Wasser gelöst, mit Natronlauge auf p_H 2 abgestumpft und soweit verdünnt, daß 1 ml noch 1,8 mg Stickstoff entsprechend 10 ml Protein enthält. 2 ml dieser Lösung werden auf die Spitze der Kolonne gebracht, 2mal mit je 1 ml 0,1 m Citratpuffer p_H 4,5[8] in das Harz gespült und nach dem Verfahren der oben genannten Autoren unter Verwendung von

[1] Magyar Kémiai Folyóirat **61**, 135—137 (1955) [Ungarisch]. (Mit dtsch. Zus.-fass.). Akad. Wiss., Budapest (Ungarn).

[2] Deutsch, T., Acta physiol. Acad. Sci. Hung. **1954** (im Druck); Dokl. Akad. Nauk. (SSSR) **48**, 623 (1954).

[3] Vgl. auch T. Deutsch, Magyar Kémiai Folyóirat **60**, 205 (1954).

[4] Biochem. Z. **326**, 433—435 (1955). Lab. f. klinische Chem., Frankfurt/M.

[5] Bode, F., H. J. Hübener, H. Brückner u. K. Hoeres: Naturwissenschaften **39**, 524 (1952); vgl. diese Z. **140**, 206 (1953).

[6] Partridge, S. M.: Biochemic. J. **42**, 238 (1948).

[7] J. biol. Chemistry **211**, 95—102 (1954). Nemour's Found., Wilmington, Del.

[8] J. biol. Chemistry **192**, 663 (1951); vgl. diese Z. **136**, 371 (1952).

Pufferlösungen mit verschiedenem p_H-Wert entwickelt. Die in Fraktionen zu 1 ml aufgefangenen Eluate werden nach der Ninhydrinmethode der gleichen Autoren[1] photometrisch bestimmt. Ornithin erscheint etwa in den Fraktionen 85—105.

Die Trennung von Canavanin und Arginin gelingt nach S. Muraoka und Y. Takagi[2] durch Papier-Elektrophorese mit Veronalpuffer (p_H 8,6) oder durch Chromatographie mit Phenol auf mit Boratpuffer von p_H 9,3 behandeltem Papier. Der colorimetrische Nachweis von Canavanin in Gegenwart von Arginin in biologischem Material ist nicht möglich. Man kann aber umgekehrt Arginin in Gegenwart von Canavanin durch die Sakaguchi-Reaktion nachweisen, wenn man letzteres durch Hypobromit zerstört, doch dürfen keine reduzierenden Stoffe wie Glucose zugegen sein. Auch durch die Ionenaustauscher Amberlite IRC-50 oder IRA-400 können beide Aminosäuren getrennt werden. K. Söllner

Bei der Mikrobestimmung von Glycerin verwendet G. Blix[3] als Waschflüssigkeit für das mit Jodwasserstoffsäure entwickelte Isopropyljodid 5%ige Natriumthiosulfatlösung. Da Thiosulfatlösungen sich bei Methylimidbestimmungen infolge Umsetzung mit Methyljodid als Fehlerquellen erwiesen hatten[4], prüfen F. Franzen, K. Eysell und H. Hack[5], ob auch zwischen Isopropyljodid und Thiosulfatlösung derartige störende Wechselwirkungen stattfinden. Es ergab sich, daß das im CO_2-Strom zugeleitete Isopropyljodid beim Durchtritt durch 4 ml 5%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung sich zu etwa 1% mit dieser umsetzt. Diese Umsetzung bleibt in der Fehlerbreite der Methode, da bei der Glycerinbestimmung nur 0,3 ml der Waschflüssigkeit zur Anwendung kommen. Weitere Prüfung ergab, daß Waschflüssigkeiten wie 10%ige Natriumantimonyltartrat-, 5%ige sodaalkalische Hydroxylaminchlorhydrat- und 5%ige l-Ascorbinsäurelösung sich mit Isopropyljodid nicht umsetzen. H. Freytag

Zur schnellen ringchromatographischen Bestimmung reduzierender Zucker erwiesen sich nach H. Venner[6] die Systeme 1. Butanol-Äthanol-NH_3-H_2O (40 : 10 : 1 : 49) und 2. Butanol-Aceton-NH_3-H_2O (40 : 50 : 3 : 15) als gut geeignet. Mit 1. wird bei 2 Std Laufzeit ein befriedigender Trenneffekt erzielt, wesentlich günstiger noch ist 2., das bei 45 min dauernder Entwicklung scharfe Trennungen mit gut reproduzierbaren R_f-Werten ergibt. Zur Sichtbarmachung bewährt sich Anilinphthalat (nach Cramer) am besten, wenn das Lösungsmittelgemisch täglich frisch bereitet wird. — *Methode.* Auf Sch. & Sch.-Papier 2043b mgl oder G. & K.-Papier 388h von 14 × 14 cm werden einige Tropfen Lösung mit 30—100 μg Zucker aufgesetzt. Nach Einführung eines Wattedochtes in den Mittelpunkt des Papieres wird dieses über eine Petri-Schale von 12 cm ⌀ gelegt, in der sich eine Schale von 4 cm ⌀ mit Lösungsmittel befindet. Das Papier wird mit einer Petri-Schale von 12 cm ⌀ abgedeckt, nach Beendigung der Entwicklung wird über einer UR-Lampe getrocknet, mit Anilinphthalat besprüht und 10 min auf 105° C erhitzt. R_f-Werte mit Lösungsmittel 2 für D-Arabinose: 0,46, D-Ribose: 0,55, D-Xylose: 0,47, 2-Desoxy-D-Ribose: 0,49, D-Glucose: 0,44, D-Galactose: 0,39, D-Mannose: 0,42, D-Arabinal: 0,88. K. Söllner

---

[1] J. biol. Chemistry **176**, 367 (1948); vgl. diese Z. **135**, 206, 209 (1952).

[2] J. pharmac. Soc. Japan **74**, 1341—1343 (1954) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.-fass. ref.).Univ. Kyoto (Japan).

[3] Mikrochim. Acta (Wien) **1**, 75 (1937); vgl. diese Z. **118**, 283 (1939/40).

[4] Franzen, F., W. Hegemann u. W. Disse, Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **39**, 277 (1952); vgl. diese Z. **139**, 224 (1953); Franzen, F., W. Disse u. K. Eysell: Mikrochim. Acta (Wien) **1953**, 44; vgl. diese Z. **146**, 42 (1955).

[5] Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 708—711. Techn. Hochsch. Aachen u. Univ. Köln.

[6] Naturwissenschaften **42**, 179—180 (1955). Univ. Jena.